

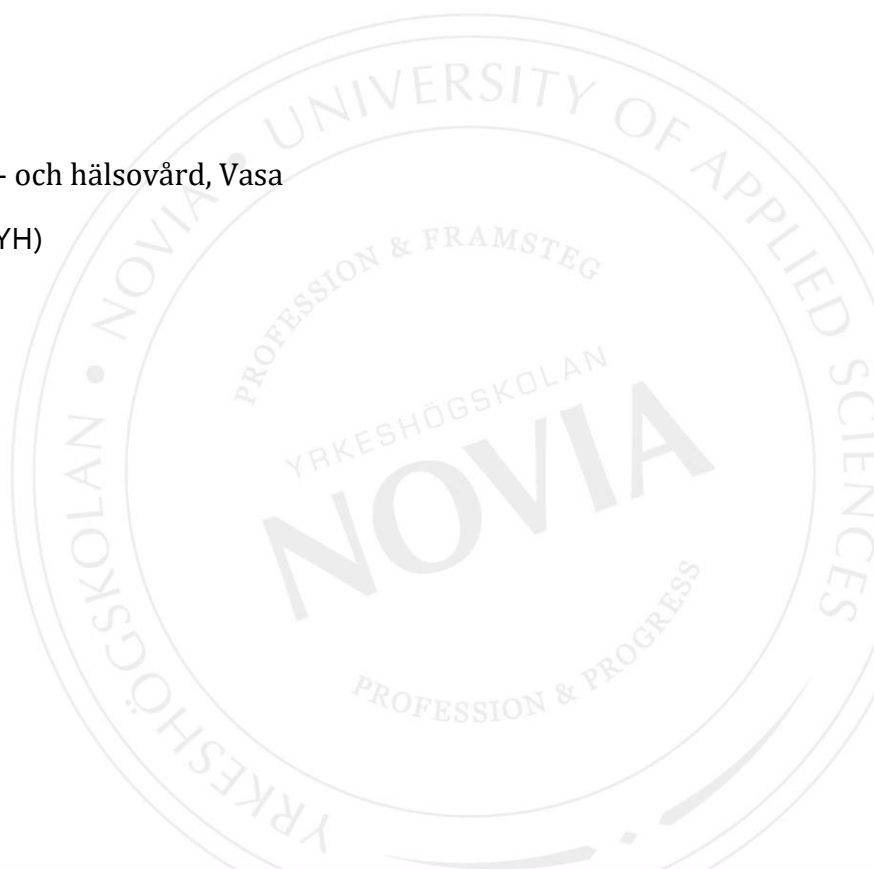
APTT som metod för utvärdering av effekten av Dabigatran

Ralf Sjösten

Examensarbete inom social- och hälsovård, Vasa

Utbildningen Bioanalytiker (YH)

Vasa / 2017



EXAMENSARBETE

Författare: Sjösten Ralf

Utbildning och ort: Bioanalytik, Vasa

Inriktningsalternativ/Fördjupning: Hematologi, koagulation

Handledare: Margareta Antus, Jukka Salminen

Titel: APTT som metod för utvärdering av effekten av dabigatran

Datum 21.10.2017

Sidantal 44

Bilagor

Abstrakt

Under en lång tidsperiod har det rådande klimatet bland antikoagulativa behandlingar som profylax mot trombo-embolism dominerats av stabilitet. Stabilitet genom användandet av warfarin, ett beprövat ämne med god dokumentering och genom en relativt bra uppföljning sedan INR adopterades av WHO 1983. Trots de många uppenbara fördelarna existerar ännu i dagens läge nackdelar med warfarinet, nackdelar som många interaktioner med andra ämnen, vilket kräver regelbunden uppföljning. Det är mot den bakgrunden som det med tiden utvecklats alternativa antitrombotiska läkemedel.

NOAC eller DOAC är antikoagulativa medel med färre interaktioner med andra ämnen och stabila verkningsmekanismer. Tanken är att NOAC eller nya orala antikoagulativa inte behöver regelbunden uppföljning på grund av sin förutsägbara farmakodynamik. Men det existerar frågetecken på flera punkter. När det gäller de nya direkta orala antikoagulativa är mätmetod och tolkning av resultat fortfarande något oklart. Det fattas även riktlinjer för hantering av situationer med behov av neutralisering av den antikoagulativa effekten i samband med akuta ingrepp eller allvarlig blödning. Arbetet belyser den nuvarande situationen och knyter an retrospektivt till utvecklingen av warfarinet och P-TT- INR som metod för uppföljning. Arbetet undersöker även praktiskt huruvida den APTT-metod som används vid Vasa centralsjukhus reagerar på ökade koncentrationer av en av de nya antikoagulativa medicinerna, dabigatran, en direkt hämmare av trombin. Resultatet pekar på att metoden kanske klarar detta, om än med vissa reservationer.

Språk: Svenska

Nyckelord: NOAC; koagulation; koagulationstester

OPINNÄYTETYÖ

Tekijä: Sjösten Ralf

Koulutus ja paikkakunta: Bioanalytiikka, Vaasa

Suuntautumisvaihtoehto/Syventävät opinnot:

Ohjaaja(t): Margareta Antus, Jukka Salminen

Nimike: APTT tutkimuksena Dabigatranin vaikutuksen arvosteluun

Päivämäärä 21.10.2017 Sivumäärä 44

Liitteet

Tiivistelmä

Jo pidemmän ajan ollut ilmapiiri keuhkoembolian ja syvän laskimotukosten terapian parissa on etenyt stabiilisissa merkeissä. Tilanne on ollut stabiili varfariinin käytön takia. Varfariini on hyvin paljon käytetty ja laajasti dokumentoitu aine. Toinen asia on vaikutuksen seuranta INR-llä, sen jälkeen kun se oli lisätty WHOn ohjelmaan 1983. Paitsi kaikki varfariinin käytön edut ovat edelleen olemassa kantapuolia. Yksi niistä on se tosiasia että varfariinin käyttö vaatii säännöllistä laboratoriseurantaa kaikki vuorovaikutuksien takia. Tämä taustatietona on helppo ymmärtää miksi uusia keinoja on kehitetty. NOAC tai DOAC on antikoagulaatiivisia aineita jolla on vähempi vuorovaikutuksia ja ei vaadi säännöllistä seurantaa hyvän ennustettavuuden takia. Kysymysmerkkejä toki löytyy. Vaikka nämä aineet ovat hyväksytyt kliiniseen käyttöön on edelleen epäselvä miten pitää toimia jos sellainen tilanne syntyy missä kiireellinen leikkaus on ainoa vaihtoehto, tai verenvuoto tilanteessa. Eikä laboratoriotutkimusten ja niiden vastauksien tulkintakaan ihan selvitetty. Tämä opinnäytetyö keskustelee nykyisen tilanne ja historiallisesta perspektiivistä varfariinin ja INR:n kehittäminen. Lisäksi on tutkittu miten Vaasan keskussairaalan APTT-menetelmä reagoi lisääntyviin dabigatranin pitoisuuksiin. Tulos antaa ymmärtää että APTT sellaisena toki pystyy siihen, vaikka pientä varovaisuutta on suositeltava tuloksien tulkinnan kannalta.

Kieli: Ruotsi

Avainsanat: NOAC; koagulaatio; seuranta

BACHELOR'S THESIS

Author: Sjösten Ralf

Degree Programme: Bioanalytik, Vasa

Specialization: Haematology

Supervisor(s): Margareta Antus, Jukka Salminen

Title: APTT, a suitable assay for determining the effect of Dabigatran

Date 21.10.2017 Number of pages 44

Appendices

Abstract

During a long period of time the climate amongst prophylactic treatment against thromboembolism has been dominated by stability. Stability through the use of warfarin, a well proven agent with extensive documentation, but also through standardized monitoring since the use of the INR was adopted by the WHO in 1983. Despite the many obvious benefits with the use of warfarin, concerns remain to date. Concerns regarding interactions with a long list of substances which requires a continuous follow up. Keeping this in mind it is easy to understand the development of alternative anti-thrombotic drugs. NOACs or DOACs represent the next generation of these types of drugs. With fewer interactions and high predictability NOACs do not generally require regular monitoring. Questions remain however, when it comes to means of testing and interpretation as well as reversing the anticoagulative effect, should the need for emergency surgery occur. This thesis discusses the current situation and peek into the development of warfarin and the efforts of producing a standardized test for measuring the effect. A practical micro-study is conducted to evaluate whether the APTT-method in Vasa city hospital detects increasing concentrations of dabigatran, one of the first NOACs to be approved of use in clinical practice. The study points in the direction of plausibility, with a due caution when interpreting the results.

Language: Swedish

Key words: NOAC; coagulation; monitoring

Innehållsförteckning

1	Inledning.....	1
2	Syfte och frågeställningar	2
3	Hemostasen	2
3.1	Plasmakoagulation.....	4
3.1.1	Koagulationsprocessen	4
3.1.2	Faktorerna.....	6
3.2	Antikoagulation.....	10
3.2.1	Fibrinolys.....	10
3.2.2	Fibrinolytiska läkemedel.	10
4	Trombos och emboli	11
5	Profylax mot trombos och emboli	12
5.1	Antikoagulativa läkemedel	12
5.1.1	K-vitaminhämmare	14
5.1.2	Trombocythämmare.....	14
5.1.3	ADP-blockerare	15
5.1.4	Heparingruppen.....	15
5.1.5	Nya orala antikoagulantia	16
6	Laboratorieundersökningar.....	22
6.1	Preanalytik.....	22
6.1.1	Interna preanalytiska faktorer	22
6.1.2	Externa preanalytiska faktorer	23
6.2	Det analytiska skedet.....	23
6.3	Postanalytik.....	24
6.4	Tromboplastintid	25
	Tromboplastintid som international normalized ratio.	27
6.5	Aktiverad partiell tromboplastintid.....	28
7	Metoder för examensarbetet	28
8	Undersökningens genomförande.....	30
8.1	Metodprinciper för undersökningar.....	30
8.2	Utförande.....	33
8.3	Redovisning och tolkning av resultat	34
9	Kritisk granskning.....	38
10	Diskussion	39
11	Källor	41

1 Inledning

Antikoagulantia är läkemedel vanliga i förebyggande och behandling av tromboser. Några av våra vanligaste allvarliga sjukdomar är orsakade av blodpropp i något av de viktigare organen. En blodpropp i något av benens blodkärl är en djup ventrombos, om proppen hittas i lungan kallas det för lungemboli och blodpropp i hjärnan utgör en stroke. För att motverka att blodproppar byggs upp kan man använda fibrinolytiska läkemedel. Dessa hjälper kroppen att lösa upp blodproppen och därmed öppna upp det blockerade blodkärlet. Efter en blodpropp är det vanligt att det i förebyggande syfte ordineras antikoagulativa läkemedel för att förhindra att det uppkommer tromboser. (1177 Vårdguiden 2016) Personer med andra faktorer som gör att de ligger i riskzonen för att utveckla emboli kan även de erhålla antikoagulativa läkemedel i profylaktiskt syfte. Dylåka tillstånd kan vara t.ex. Post-operativt, förmaksflimmer, hjärtsvikt, konstgjorda klaffar eller högt blodtryck. (1177 Vårdguiden 2016).

Ett av de vanligaste antikoagulativa läkemedlen i Finland i dag är warfarin. Warfarin hämmar syntesen av det för koagulationen så viktiga k-vitaminet och dess verkan är väl dokumenterad. Warfarin påverkar koagulationen på ett individuellt sätt och behöver därför uppföljning av verkan genom regelbundna blodprov. Val av diet kan inverka, varför det är av vikt att patienten får adekvat information. (Ellonen, Mustajoki 2015).

Nya orala antikoagulativa läkemedel verkar genom att blockera specifika koagulationsfaktorer och därmed motverka trombosbildning. Ett av dessa läkemedel är Dabigatran som hämmar faktor IIa, eller Trombin. (1177 Vårdguiden 2016). Andra NOAC, (NOAC är kort för den engelska beskrivningen non vitamin K oral anticoagulant, i fortsättningen används den engelska förkortningen i arbetet), verkar genom att hämma faktor X i koagulationen. En av de stora fördelarna med de nya orala antikoagulativa medicinerna är att de inte behöver övervakas på samma sätt som warfarinet. Trots att dessa läkemedel blivit godkända genom klinisk prövning kvarstår dock flera frågetecken. Det föreligger fortfarande brister då det kommer till motmedel i akuta situationer med föreliggande blödningsrisker. Ett andra problem har varit bristen på test som på ett pålitligt sätt skulle kunna mäta den antikoagulativa verkan eller förutsäga blödningsrisken hos en patient som behandlas med NOAC. (Brown et al. 2016).

2 Syfte och frågeställningar

Syftet med detta arbete är sekundärt att diskutera den rådande situationen då det kommer till användningen av de mera oprövade nya orala antikoagulativa medicinerna. Trots flera år i användning har dessa ämnen fortfarande en del frågetecken som rör risker i användning, få och mycket dyrbara alternativ till att upphäva effekten och slutligen hur den faktiska antikoagulativa verkan skall mätas på ett konsekvent och pålitligt sätt hos den behandlade patienten. Det primära syftet med arbetet är därför att undersöka huruvida en vanlig mätmetod, APTT, (kort för aktiverad partiell tromboplastintid, benämns i fortsättningen med förkortningen), klarar av att indikera halter av Dabigatran, en trombinhämmare som tillhör kategorin nya orala antikoagulativa.

Arbetet strävar även till att belysa de för koagulationen viktigaste mekanismerna och förklara händelseförloppet vid händelse av kärlskada. För att ge en bättre förståelse för varifrån vi kommit och vart vi är på väg i utvecklingen av profylaktisk trombosbehandling och testningen av denna behandlas även utvecklingen ur ett historiskt perspektiv. Historikens syfte är att ge en förklaring till behovet bakom och uppkomsten av ett standardiserat test med hänsyn till variationer i olika tillverkares reagens, utvecklingen av INR, eller international normalized ratio. Genom att förstå hur detta utspelades är det samtidigt lättare att omfatta varför den rådande situationen är något problematisk. Fokus ligger dock specifikt på orala antikoagulativa och behandlar inte destu mera ämnen som administreras parenteralt eller på andra sätt än just peroralt.

Frågeställning i arbetet: Kan man se en förlängning av APT-tiden med ökande koncentrationer av dabigatran?

3 Hemostasen

Hemostasen kan beskrivas som kroppens sätt att hantera läckage från blodkärl. Utan hemostas kan konsekvensen av redan obetydliga trauman bli förblödning. Under normala betingelser stoppas blödning från blodkärlen omgående genom att blodet stelnar och bildar en plugg. Kärlkontraktionen underlättar denna reaktion. För att balans skall råda har kroppen även inbyggda mekanismer som hämmar koagulationsbildningen för att motverka okontrollerad koagulation med trombutveckling som följd. (Hedner 2006, s. 410). Organismens hemostassystem ser till att blodet hålls flytande under cirkulationen i

blodkärnen (Mahlamäki 2003, s. 310). Kroppens förmåga till att stoppa blödning utan att det för den skull bildas tromber är en reglerad helhet av olika processer som tillsammans utgör hemostasen. Primär hemostas, plasmakoagulation med tillhörande antikoagulativa funktioner och fibrinolysen. (Astermark 2012, s. 287).

Primär hemostas

Under den primära hemostasen drar blodkärlet ihop sig genom påverkan av nerver och muskler. Trombocyter aktiveras, ändrar form och fäster till kärlväggen. Efter aktivering producerar trombocyten ämnen som drar till sig ytterligare trombocyter och det uppstår en trombocytplugg. (Palta 2014). Parallellt med bildningen av en trombocytplugg aktiveras även koagulationsfaktorerna i plasmakoagulationen, vilket i sin tur leder till ett fibrinnätverk som stabiliserar pluggen (Mahlamäki, 2003, s. 312).

Trombocyter

Trombocyter är cellfragment med en diameter på ca 2µm som avskiljs från megakaryocyter, belägna i den röda benmärgen. Med en livslängd på ca 10 dygn är trombocyterna inte särskilt långlivade. (Sonesson 2008, s. 268). Det är hormonet trombopoetin som stimulerar proliferation och utmognad av trombocyter från benmärgen. Hormonet bildas främst i njurarna och levern. (Kutti Wadenvik 1997, s. 374).

Tabell 1. Referensintervallet för trombocyter är enligt huslab B-Trom:

Ålderskategori	Intervall
vuxna	150-360 x 10 ⁹ /L
Barn 0-6 dygn	140-290 x 10 ⁹ /L
Barn 7-20 dygn	150-340 x 10 ⁹ /L
Barn 21-29 dygn	180-390 x 10 ⁹ /L
Barn 1mån-16år	200-450 x 10 ⁹ /L

(Ohjekirja, Huslab)

Trombocyter har två typer av granula, α granula och β granula. Det förstnämnda innehåller bland annat ämnen som fibrinogen, faktor V och faktor VIII. Den andra typen, eller β granula, är täta granula som utsöndrar bland annat ADP (adenosine diphosphate) och kalcium. (Palta 2014).

Trombocyterna har en viktig roll i koagulationsreaktionen. Deras huvuduppgift är att föra koagulationssystemet till platsen för kärlskada och bilda en trombocytplugg. Adhensionsreceptorer medierar adhesion till kärlväggen och deltar i aktiveringen av trombocyter. (Lassila 2015, ss. 32-33).

Vid aktivering ändrar trombocyterna form från ett skivaktigt utseende till ett mera sfäriskt sådant med långa utskott som skall möjliggöra adhesion. Förändringarna i formen på trombocyterna såväl som sammandragning av trombocytpluggen stimuleras av actin och myosin som finns i riklig mängd i cytoplasmat. (George 2000, s. 1531). Bildandet av själva trombocytpluggen involverar en rad steg. Det första är adhesion till kollagen i blodkärlets endotel. Därefter utsöndras olika ämnen från båda typerna av granula. Kalcium frigörs och medierar bildandet av andra koagulationsfaktorer. Slutligen sker en aggregering genom inverkan av ADP och tromboxan, vilket får trombocyter att ytterligare aggregera till området och åstadkomma en trombocytplugg som klarar av att täppa till kärlväggen tillfälligt. (Palta 2014).

3.1 Plasmakoagulation

Plasmakoagulationen utgörs under normala omständigheter av olika reaktioner som så småningom leder till att trombin bildas från protrombin. Trombinet besitter egenskaper som gör att det spelar en viktig roll i koagulationen. Till dess prokoagulativa uppgifter hör aktivering av faktorerna XI, XIII, kofaktorer V och VIII och fibrinbildning. Förutom detta aktiverar trombinet protein C- system som bidrar till att motverka plasmakoagulationen. (Astermark 2012, s. 287).

3.1.1 Koagulationsprocessen

Flera koagulationsfaktorer är till sin struktur serinproteaser. I levern produceras de vitamin-K beroende faktorerna, protrombin, FVII, FIX och FX och de innehåller gammakarboxylerade glutamylstjärnor som binder till fosfolipider i cellmembranet. Behandling med warfarin verkar antikoagulativt genom dess förmåga att förhindra gammakarboxylering. (Lassila 2015, s. 36). Man räknar i dagens läge med tolv faktorer som deltar i koagulationen. De flesta av dem benämns med romerska siffror i spannet 1-13. En av dessa, FVI, föll bort på grund av felaktig hypotes och därmed är faktorerna 12 till antalet. Fibrinogen, protrombin, vävnadsfaktor och kalcium benämns vanligen med dessa

trivialnamn och inte med den romerska nummer de representerar, I-IV. (Nyman 1997, s. 344).

Plasmakoagulationen kan indelas i den inre och den yttre vägen. Det handlar om en ytterst komplex kedja av reaktioner. Indelningen kan detta till trots vara till hjälp för att förstå förloppet. Den yttre vägen startar hela kedjan vid kärlskada och vävnadstromboplastin (TF, eller tissue factor) exponeras från endotelceller i den skadade kärlväggen. TF är den enda faktorn som inte cirkulerar i blodet. Faktor VIIa binds till TF och komplexet aktiverar därefter FX. Den aktiva formen av FX aktiverar i sin tur protrombin till aktivt trombin. TF-VIIa komplexet aktiverar även FIX som tillsammans med FXa stimulerar produktion av mera FVIIa. Den inre vägen utgör en alternativ väg till aktivering av FXa och i förlängningen aktivering av mera trombin. Faktorerna Xa och trombin spelar en nyckelroll i koagulationskaskaden och den amplifiering som sker. Det är trombinet som aktiverar FXI som aktiverar FIX. Aktiv faktor IX tillsammans med kofaktor VIIIa kan generera mera FXa. Trombinet aktiverar även FV som tillsammans med FXa bildar ett effektivt protrombinaskomplex. Detta genererar mera trombin. Båda vägarna leder till en gemensam slutfas där trombinet bildar fibrintrådar ur fibrinogen. Slutligen länkas fibrinet samman av FXIII (transglutaminas) för att ett hållbart nätverk skall uppstå. (Astermark 2012, s. 287).

3.1.2 Faktorerna

Faktor I, eller fibrinogen, är den faktor som förekommer i rikligast mängd i blodet. Det är ett glykoprotein som är uppbyggt av tre par polypeptidkedjor. Disulfidbryggor håller samman kedjorna. Trombin avspjälkar fibrinopeptiderna A och B från N-terminala delen på alfa- och betakedjorna. Först spjälks fibrinopeptid A loss och ett fibrinigel möjliggörs. Denna primära struktur är dock inte hållbar och är mycket sårbar för upplösning av plasmin. Efter att även fibrinopeptid B spjälkts loss och en stabilare polymerisation uppstår, blir gelen hållfastare. Under inverkan av FXIIIa stärks nätverket av fibrintrådar ännu mera. (Nyman 1997, s. 344).

Fibrinogen kan koncentrationsbestämmas ur Na-citratplasma vid blödningsbenägenhet eller liknande tillstånd. Preanalytiken är liknande som vid andra koagulationsundersökningar. Otvingat blodprov, Na-citratrör fyllt till markering och en snar separering av plasman. Vid misstanke om DIC (Disseminated Intravascular Coagulation) skall provet analyseras omedelbart efter separering. Låga värden av fibrinogen kan vara indikation på afibrinogenemi eller hypofibrinogenemi, svåra leverskador (fibrinogen produceras i levern), fibrinolytiska sjukdomar eller DIC. Förhöjda värden påträffas vid bland annat akuta inflammationer, malignom, i slutskedet av graviditet och nefrotiskt syndrom. Höga halter fibrinogen är förknippade med ökad risk venös och arteriell trombos. (VKS, Vaasan keskussairaala, laboratorio-ohjekirja).

Faktor II, eller protrombin, produceras i levern och är ett glykoprotein som består av en enda polypeptidkedja. Produktionen av protrombin sker i levern och är K-vitamin beroende. En snabb aktivering av protrombin till trombin kräver lipider, kalcium och närvaro av faktor V. Det är aktiverad faktor X (FXa) som spjälkar protrombinmolekylen till en molekyl av två kedjor och därefter sker ytterligare en klyvning, vilket leder till att trombinet friställs. Det spjälkar arginyl-glycinbindningar i fibrinogenmolekylens N-terminala ända. Detta resulterar i en frisättning av fibrinopeptiderna A och B. (Nyman 1997, s. 344). Brist på protrombin som en följd av ärftliga defekter är inte så vanligt, men förvärvad brist på grund av leverskador och brist på vitamin-K kan ses. Bristen i dessa fall gäller emellertid då oftast även andra koagulationsfaktorer och inte enbart protrombin. En normal hemostas upprätthålls vanligen redan med en 30 procentig nivå av det normala protrombinvärdet. (Astermark 2012, s. 293).

Faktor III, mera känd som vävnadsfaktor, tissue factor, eller vävnadstrombokinas, hittas i de flesta vävnaderna i kroppen. I hjärna och lungor är koncentrationen speciellt riklig. Även

på celler som leukocyter och endotel hittar man denna faktor bunden till membranet i en för blodet otillgänglig form. Komplexet som utgör vävnadsfaktorn består av ett protein och en fosfolipid. Koagulationsaktiviteten hos proteinet är låg men i närvaro av lipiden ökar aktiviteten med cirka 950 gånger. Faktor III initierar den yttre vägens plasmakoagulation genom att binda till och aktivera faktor VII. (Nyman 1997, s. 345).

Faktor IV, är kalcium, eller närmare bestämt kalciumjoner. Dessa är nödvändiga i många av koagulationsstegen. Undantagen är kontaktaktivering och fibrinopeptidernas avspjälkning. Kalciumjonerna faciliterar koagulationsfaktorernas bindning till fosfolipider och är essentiella vid aktiveringen av faktor XIII. (Nyman 1997, s. 345). Kalcium är det mineral som finns i störst överflöd i kroppen. Det hittas naturligt i en del livsmedel och ibland i tillsatt form. Det kan tas som kosttillskott och finns i vissa läkemedel, till exempel i antacida. Kalcium behövs för kontraktion i blodkärlen, såväl som vasodilation. Andra kroppsfunktioner som kräver närvaron av kalcium är muskelfunktion, nervimpulser, intracellulär signalering och utsöndring av hormoner. Dessa metaboliska funktioner behöver dock inte ens en procent av kroppens totala kalcium. Halten kalcium i kosten påverkar inte koncentrationen av kalcium i plasma, eftersom detta är noggrant reglerat. Kroppen använder benstommen och tänderna som en lagringsplats och källa för kalcium. Med hjälp av denna buffert kan kroppen upprätthålla jämna nivåer av kalcium i musklerna, blodet och intracellulär vätska. Strukturen och funktionen av benvävnad och tänderna upprätthålls av detta kalcium som även behövs i benvävnadens ständiga omformning. (NIH 2016).

Faktor V, eller proaccelerin, är ett relativt stort protein vars reaktivitet ökas av trombin. Det är i levern den icke K-vitaminberoende syntesen av proaccelerin sker. Eftersom faktor V inte har någon egen enzymatisk aktivitet räknas det således som en kofaktor. (Nyman 1997, s. 345). Faktor V spelar en viktig roll i aktiveringen av protrombin till trombin. Detta sker genom medverkan i multikomponentkomplex, protrombinas, i vilket ingår ett enzym (FXa), en kofaktor (Va) och ett substrat (protrombin). Kofaktorn Va spelar en väsentlig roll i detta komplex, vilket kliniskt kan ses genom effekterna av defekta FVa molekyler, som i fallet av Factor V Leiden. Factor V Leiden är en sjukdom som beror på en mutation och leder till att inaktiveringen av faktorn försvagas genom försämrat svar mot aktivt protein C. Detta leder i sin tur till att kontrollen för trombinbildning försvagas och det blir risk för okontrollerad koagulation. (Lassila 2015, s. 37).

Faktor VII, även kallad Prokonvertin, produceras i levern och för att fungera med full koagulationsaktivitet analogt till protrombin behövs K-vitamin (Nyman, 1997, s. 345) Den yttre vägens aktivering av plasmakoagulationen initiera då FVII binder vävnadstromboplastin. Eftersom vävnadstromboplastin, eller tissue factor (TF), inte cirkulerar i blodet är det först vid en skada på kärlväggen som FVII exponeras till sin kofaktor TF. Detta komplex aktiverar snabbt FX som i sin tur aktiverar protrombin till trombin. (Astermark 2012, s. 287).

Faktor VIII, ett glykoprotein som även kallas antihemofil faktor A. Det handlar om en molekyl med kemiskt och funktionellt komplex struktur. Faktor VIII komplexet består funktionellt av FVIII-koagulationsaktivitet (VIII C), von Willebrand-faktor- aktivitet (VIII WF) och ristocetin-kofaktoraktivitet (VII RCoF). Oftast benämns inte de olika delfunktionerna utan de beskrivs som den helhet som utgör FVIII. Ristocetin betecknas som ett ämne med antibiotiska egenskaper. Det aggregerar trombocyter i närvaro plasmakofaktor. (Nyman, 1997, s. 346). Klassisk blödarsjuka, eller hemofili A, orsakas av brist på faktor VIII. Sjukdomen är kromosom-x-bunden och nedärvs recessivt, drabbar därför män medan kvinnor kan bära på anlag. (Astermark 2012, s. 292).

Faktor IX, eller antihemofil faktor B, kallas även Christmas faktor. Det är en leversyntetiserad faktor vars syntes kräver K-vitamin för att ämnet skall få full koagulationsaktivitet. Det är faktorerna VIIa och XIa som aktiverar FIX. Denna spjälks då på två ställen och utgörs därefter av två kedjor sammanbundna av en disulfidbrygga. Den aktiva formen av faktor IX är en serinproteas som tillsammans med faktor VIII, kalcium och en fosfolipid, aktiverar faktor X. Den aktiva faktor IX spjälkar en arginyl-isoleucin bindning i faktor X. (Nyman 1997, s. 346).

Faktor X, Stuart-Prower-faktor, syntetiseras i levern och processen är K-vitaminberoende. Aktivering av faktor X sker genom närvaro av faktor IX, kalcium, fosfolipid och faktor VIII. En annan aktiveringsväg är genom vävnadstromboplastin (TF) - faktor VII komplex i närvaro av kalcium. Två peptider klyvs från den tunga kedjan då faktor X aktiveras och därefter omvandlar protrombin till trombin.

Faktor XI, eller plasmatromboplastin-antecedent (PTA), är en produkt av syntes i levern. I motsats till många andra faktorer kräver denna inte närvaro av vitamin K för aktivitet. Faktorns funktion i plasmakoagulationen är att i närvaro av kalcium aktivera faktor IX, efter att själv aktiverats till fungerande proteas av faktor XII.

Faktor XII kallas ibland för Hageman-faktor. Man känner igen två aktiveringsvägar för det överksamma FXII till ett aktivt proteas. Genom konformationsförändring då kontakt med basalmembran eller kollagen leder till aktivering utan att molekylvikt eller polypeptidkedjor ändras. Den andra vägen är om aktiverande ämne är kallikrein eller plasmin, varvid en proteolytisk spjälkning av FXII sker. FXIIa aktiverar i sin tur XI i koagulationskaskaden. Förutom denna funktion kan Faktor XIIa även aktivera prekallikrein som tillsammans med högmolekylärt kininogen loppas tillbaka och aktiverar mera Faktor XII. Denna trio förbinder även koagulationen till inflammation genom kininproduktionen, aktiverar komplementsystem samt det fibrinolytiska systemet. (Nyman 1997, s. 346; Schmaier 2008).

Faktor XIII karaktäriseras som en fibrinstabiliserande faktor och fyller en viktig funktion i koagulationsförloppet. Detta eftersom fibrin i sin ofärdiga form, fibrinogen som aktiverats av trombin, inte är starkt nog att motstå plasminets upplösande verkan. Faktor XIII cirkulerar i blodet som ett tetrameriskt komplex bestående av två A- och två B-enheter. I det slutliga steget av plasmakoagulationen blir FXIII aktiverat i en flerstegsprocess som involverar dissocierandet av de båda hämmande B-enheterna, begränsad proteolys hos A-enheterna på grund av trombinets katalyserande effekt och morfologiska förändringar hos A-enheterna, drivna av kalciumjoner. Det aktiva enzymet (FXIIIa) fungerar som ett transglutaminas och

faciliterar bindningar mellan fibrinmonomerer och binder antiplasmin till fibrin. Detta leder till att koaglet blir starkare och motstår bättre upplösning. (Nyman 1997, s347; Tacke 2006, s173)

3.2 Antikoagulation

För att motverka tromboser i kroppen finns det mekanismer som skall motverka de prokoagulant enzymaktiveringarna. Sådana är TFPI, protein C-systemet och antitrombin. Protein c är ett vitamin-K beroende proenzym. Kräver aktivering för att klara av att utföra sin uppgift. Detta sker genom att trombin binder till endotelcellens trombomodulin som finns på ytan av endotelcellen. Antitrombin är ett plasmaprotein som finns i cirkulationen i välreglerad mängd. Antitrombinet verkar genom att binda heparinliknande substanser till endotelcellsytan och hämmar på så sätt främst trombin och faktor X. Vid behandling med heparinsubstanser förhöjs effekten, medan brister, redan små sådana, kan ge upphov till tromboemboliska situationer. (Astermark 2012, s. 289). Endotelceller, stimulerade av trombin, utsöndrar TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor), vilket bromsar den av vävnadstromboplastinet (TF) startade koagulationsreaktionen. TFPI, blockerar förutom vävnadstromboplastin-Faktor VII komplex även Faktor Xa. (Mahlamäki 2003, ss. 313-314; Lassila 2015, s. 38).

3.2.1 Fibrinolys

Nedbrytning av koaglet kallas för fibrinolys. Plasminogen binds till fibrintrådarna vid bildande av fibrinkoaglet. Genom inverkan av vävnadsplasminogenaktivator, tPA, omvandlas plasminogenet till det aktiva enzymet plasmin. Fibrintrådarna bryts ned av det aktiva plasminet. En nedbrytningsprodukt från fibrintrådarna som kan mätas i blodet är D-dimerer. (Berséus et. al. 1994, s. 45). Den fibrinolytiska processen startar som ett omedelbart svar på koagulationen. Huvudsyftet med fibrinolysen är att börja lösa upp koagel och begränsa detta till platsen för kärlskadan. (Lassila 2015, s. 39).

3.2.2 Fibrinolytiska läkemedel.

Flera fibrinolytiska läkemedel är vanliga i kliniskt bruk. Det främsta användningsområdet är att vid akut hjärtinfarkt eller stroke öppna de tilltäppta artärerna. Då det kommer till venös trombos eller lungemboli, även allvarlig sådan, är användning av fibrinolytiska ämnen inte

så vanlig. Vid hjärtinfarkt existerar det i dagens läge goda alternativ till lytiska läkemedel i form av ballongutvidgning av det tilltäppta kranskärlat följt av uppstagning av kärlväggen med hjälp av stent. Exempel på fibrinolytika är streptokinas, Alteplas och Retaplas. Streptokinas är ett protein som tas fram ur streptokockodlingar. Administreras intravenöst och verkar genom att det aktiverar plasminogen. Effekten av streptokinas motverkas av antikroppar som börjar bildas från ca fyra dagar efter initialdos. Detta innebär att efter fyra dagar passerat bör inte behandlingen med streptokinas upprepas. Alteplas är ett rekombinant tPA. Har en högre affinitet för fibrinbundet plasminogen än den som finns i plasma. Alteplas administreras intravenöst. Retaplas har liknande verkan som Alteplas, men kan ges oralt tack vare längre halveringstid. (Rang & Dale et al 2012, ss. 306-307).

4 Trombos och emboli

Det finns en lång rad förvärvade risker för embolier. Bland annat kirurgiska ingrepp av olika slag, trauma, cancer, hjärtsvikt, stroke, hjärtinfarkt med hjärtsvikt, myeloproliferativa sjukdomar, nefrotiskt syndrom och förhöjd nivå av koagulationsfaktorer. (Johnsson & Mattiasson 2000, s. 159; Schulman & Lindström 2015). Vanligt är att det hos patienter med ventrombos i benen lossnar delar av koaglet som förs med blodflödet till lungan. Det är inte alltid detta leder till några tydliga besvär, eftersom det kan handla om mindre trombosdelar. Detta förhållande mellan ventromb och lungemboli är ganska beskrivande av ett och samma sjukdomstillstånd eftersom de ofta samexisterar. (Johnsson & Mattiasson 2000, s. 159).

När det gäller de fysiska mekanismerna bakom venös tromboembolism är det framför allt tre orsaker. Irritation av blodkärlat och omgivande vävnader, en blodkoagulation som är abnormt ökad, samt ett avbrott i blodflödet. Denna patofysiologiska beskrivning är känd som Virchows triad, efter den tyska patologen Rudolf Virchow. (Johnsson & Mattiasson 2000, s. 159; Schulman 2012, s. 299; Hedner 2006, ss. 424-425). Det är på läsidan av en venklaff där blodflödet är långsamt som den djupa ventrombosen vanligen uppstår. Endotelskada uppstår efter att ansamlade neutrofiler utsöndrat vävnadstoxiska enzymer. Trombocyter aggregerar, frisätter koagulationsfaktorer som koncentreras och bildar aktiveringskomplex. Fibrin bildas och ett koagel uppstår. Detta leder i sin tur till att blodflödet blir allt långsammare lokalt och koaglet kan växa mot en proximal riktning. Denna trombos, om den ej adhererar fullt ut till väggen av blodkärlat, kan fragmenteras och resultera i embolier. Ofta hamnar dessa i någon av lungartärerna. (Schulman 2012, ss. 299-300).

5 Profylax mot trombos och emboli

Studier har visat att det går att förebygga djup ventrombos i högrisksituationer. Detta kan ske genom användning av mekaniska eller antitrombotiska metoder. Dödligheten i lungemboli kan likaledes begränsas efter kirurgiska ingrepp. (Schulman 2012, s. 301). Det är viktigt att så fort som möjligt behandla djup ventrombos för att om möjligt förhindra risken för lungembolism. För att göra så måste tillväxten av tromben stoppas upp och därigenom neutralisera den genom att den inom någon dag fäster till venväggen. Perorala läkemedel verkar först efter flera dagars intag och därför blir det nödvändigt att använda sig av heparin av något slag, vilket ges parenteralt och är snabbverkande. (Lockner 1997, s. 398).

5.1 Antikoagulatoriska läkemedel

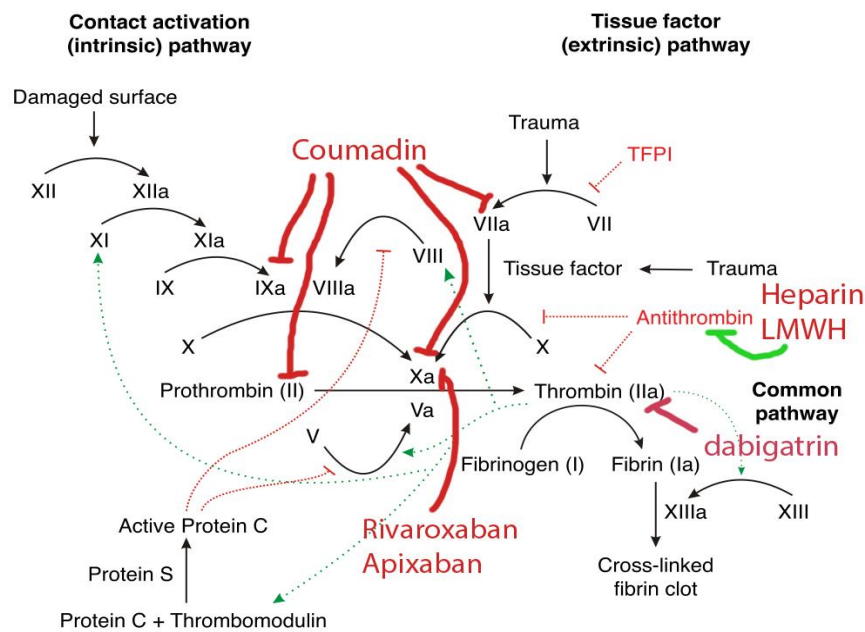
Under kommande kapitel behandlas en rad olika läkemedel och även neutralisering av dessa. För att lättare kunna följa ger tabell 2. en översikt.

Tabell 2. Neutraliserande ämnen och vilka ämnen som påverkas

Neutraliserande	vitamin K	protamin	idarucizumab	andexanet alfa*	Ciparantag*	irreversibel verkan
Antikoagulatoriska ämnen						
acetylsalicylsyra	-	-	-	-	-	ja
warfarin	ja	-	-	-	-	-
heparin	-	ja	-	-	ja	-
LMWH, lågmolekylärt heparin	-	-	-	ja	ja	-
dabigatran	-	-	ja	-	ja	-
apixaban	-	-	-	ja	ja	-
rivaroxaban	-	-	-	ja	ja	-
edoxaban	-	-	-	ja	ja	-

* Inte ännu godkända

För att förstå hur de olika antikoagulatoriska ämnena verkar är det av stor vikt att det finns en uppfattning över hur plasmakoagulationen framskrider efter aktivering. I figur 1. illustreras vilka mekanismer eller faktorer som motverkas av respektive typ av ämne.



Figur 1. Verkningspunkt för olika antikoagulativa

Coumarin eller som det oftast kallas i Finland, warfarin, påverkar flera faktorer med det gemensamma draget att de är k-vitaminberoende för att fungera (Mustonen & Lepäntalo 2015, s. 573). Det lågmolekylära heparinet blockerar aktiv faktor X och i viss mån trombin (Lockner 1997, s. 398). Dabigatran blockerar specifikt trombin, medan direkta faktor Xa hämmare, hämmar specifikt aktiv faktor X (Drugs.com u.å.). I figur 1. visas var i koagulationsreaktionen de olika läkemedlen verkar. De olika grupperna behandlas skillt för sig i de kommande kapitlet. Även om tyngdpunkten i arbetet i stort ligger på de orala antikoagulativa warfarin och NOAC, följer även en redogörelse för övriga grupper.

5.1.1 K-vitaminhämmare

Warfarin hör till kumaringruppen av läkemedel. Verkningsmekanismen för läkemedel i kumaringruppen är att de är vitamin-K antagonister. I Finland är det främst warfarin man använder då det gäller K-vitaminhämmare. Behandling med warfarin leder till defekter hos de koagulationsfaktorer som är beroende av K-vitamin och i förlängningen försvagad verkan av dessa. Faktorerna VII, IX, X, samt protrombin, påverkas av warfarin. (Mustonen & Lepäntalo 2015, s. 573). Warfarin är i dagens läge ett välbeprövat, om än inte helt utan problem, så åtminstone ett läkemedel med gedigen dokumentation. Historien bakom warfarinet börjar så tidigt som på 1920 talet då M Roderick i North Dakota visade på den hemorragiska faktor i klöversorterna (*Melilotus alba* och *M. officinalis*) som reducerade effekten av protrombin. Upptäckten gjordes i samband med en ovanlig sjukdom som härjade bland boskapen i norra delar av USA och Canada. Sjukdomsfallen karaktäriserades av fatala blödningar, interna eller från småskador. Det var Karl Link som tillsammans med Harold Campbell som sedermera kunde fastställa att det antikoagulativa ämnet i klövvret var 3,3'-methylenebis (4-hydroxy coumarin) (Eng). Link utvecklade från denna upptäckt den syntes av warfarin som kom till 1948. Till en början godkändes ämnet för användning som bekämpningsmedel mot gnagare. För mänskligt bruk godkändes warfarin 1954 i USA. Namnet är härlett ur Wisconsin Alumni Research Foundation och -arin från Coumarin. (Pirmohamed 2006, ss. 509–511).

5.1.2 Trombocythämmare

Trombocythämmare motverkar trombocyternas aggregation. Acetylsalicylsyra, klopido­grel, dipyridamol, tikagrelor och prasugrel är de verksamma ämnena i trombocythämmare. (1177 Vårdguiden 2016). Av dessa är den äldsta och även den förmodligen mest kända Acetylsalicylsyran. ASA påverkar trombocyten­ens prostaglandinmetabolism och bildandet av TXA2 förhindras. Detta leder till att trombocyten reagerar svagare på retning från exempelvis ADP, trombin, kollagen och adrenalin. Effekten av ASA är irreversibel och kvarstår under hela trombocyten­ens livslängd. Varje dag förnyas dock 10% av trombocyterna, vilket innebär att fem dygn efter avslutad behandling är trombocytfunktionen näst intill återställd. ASA används för att förhindra proppar i artärerna vid kranskär­lssjukdom, störningar i hjärnans blodcirkulation och vid sjukdomar i de perifera artärerna. (Mustonen & Lepäntalo 2015, ss. 569-571).

5.1.3 ADP-blockerare

Klopidogrel, tikagrelor och prasugrel verkar som selektiva ADP blockerare. De förhindrar bindningen av ADP till trombocyters ytreceptorer. ADP som frigörs från endotelceller vid skada på kärlväggen ökar avsevärt trombocyttaktiviteten. Det är denna aktivering som man strävar till att dämpa med hjälp av ADP blockerare. De olika ämnena skiljer sig från varandra något då det gäller verkningstid och farmakokinetik. (Mustonen&Lepäntalo 2015, ss. 571-572).

5.1.4 Heparingruppen

Heparingruppens läkemedel blockerar flera ämnen som medverkar i koagulationen. Till denna grupp hör heparin, dalteparin, enoxaparin och tinzaparin (1177 Vårdguiden 2016). Heparin är en mukopolysackarid som samverkar med antitrombin III. Det hämmar koagulationsfaktorerna IXa, Xa, XIa och trombin. Behållningen av heparinbehandling är att det är snabbverkande, det har förmågan att inte enbart förhindra uppkomsten av trombos utan även förhindra tillväxten av existerande trombos. Det fungerar även mycket anti-inflammatoriskt och kan ofta lindra smärtor i samband med trombos. Heparin fungerar enbart parenteralt och administreras därför subkutant eller intravenöst. Vid behandling med intravenöst heparin är effekten omedelbar och behandlingen lämpar sig bra vid flera typer av trombos som inträffat nyligen och i situationer där man inte kan använda fibrinolytisk behandling. (Lockner 1997, s. 398).

Man skiljer mellan ofraktionerat (UFH, unfractionated heparine) och lågmolekylärt (LMWH, low molecular weight heparine) heparin. Molekylkedjorna i det ofraktionerade heparinet är längre än i det lågmolekylära heparinet. Den mest framträdande egenskapen hos heparin är dess förmåga att effektivisera antitrombinets förmåga att blockera trombin och aktiv faktor X. Lågmolekylärt heparin skiljer sig i en rad aspekter från det mera traditionella ofraktionerade. Även om det lågmolekylära har ökat i popularitet finns det fortfarande områden då det ofraktionerade är att föredra. Till exempel vid hjärt och kärlkirurgi. Detta på grund av den relativt korta verkningstiden och det faktum att effekten är reversibel med hjälp av protamin. Patienter som är blödningsbenägna eller lider av njurinsufficiens behandlas oftast även de med ofraktionerat heparin. (Mustonen&Lepäntalo, 2015, ss. 577-578).

Det ofraktionerade heparinet övervakas oftast med hjälp av APTT, medan det lågmolekylära i likhet med de nya orala antikoagulativa inte anses behöva regelbunden testning. I undantagsfall kan laboratorietest ändå vara motiverade. Sådana fall kan röra sig om

graviditeter, grav övervikt, njurinsufficiens, eller ökad blödningsrisk. Som undersökningsmetod används i sådana fall AntiFXa, på grund av det lågmolekylära heparinets övervägande benägenhet att blockera just aktiv faktor X. Eftersom LMWH även i någon mån besitter trombinblockerande egenskaper ger inte testet hela bilden av koagulationsförmågan hos en person utan blir mera riktgivande. (Mustonen & Lepäntalo, 2015, ss. 577-578).

5.1.5 Nya orala antikoagulantia

Till gruppen nya orala antikoagulativa hör läkemedel med verksamma substanser som dabigatran, rivaroxaban, apixaban och edoxaban. Dabigatran skiljer sig från de övriga genom att det är en trombinhämmare, medan de övriga hämmar faktor Xa. (1177 Vårdguiden 2016). Till listan över godkända orala hämmare av faktor Xa kan sedan juni 2017 läggas till Betrixaban som säljs under det kommersiella namnet Bevyxxa (Drugs.com).

Bland fördelarna som tillskrivs nya orala antikoagulativa läkemedel, eller som de ofta förkortas internationellt, NOAC (non vitamin K oral anticoagulants) eller DOAC (direct oral anticoagulant), är att de till skillnad från vitamin-K antagonister inte är lika känsliga för interaktion med andra läkemedel, detsamma gäller intag av födoämnen. Vidare kräver NOAC i regel inte regelbundna laborietester på grund av sin förutsägbara farmakodynamik och farmakokinetik. (Brown et. al. 2016).

I omfattande kliniska tester där de första godkända läkemedlen, dabigatran, apixaban, rivaroxaban och edoxaban testades genomgående visade de sig vara åtminstone lika effektiva som warfarin då det rörde sig om att förebygga stroke och systemisk embolism hos patienter med förmaksflimmer. De förknippades med lägre frekvens av hemorragisk stroke och lägre eller liknande frekvens av större eller kliniskt relevanta mindre blödningar, samt avsevärt färre fall av intrakraniala blödningar, i jämförelse mot warfarin. Vid behandling mot venös tromboembolism, har NOAC visat sig lika potent som traditionella metoder med behandling med intravenös enoxaparin eller heparin följt av warfarin eller liknande. (Brown et. al. 2016).

Läkemedelskonsumtion redovisat i apotekens inköpspris

Tabell 3.. Försäljningsstatistik över de antikoagulativa läkemedlen

ATC CODE	SUBGROUP OR CHEMICAL SUBSTANCE	2016		2015		2014		2013	
		WHOLE SALE PRICE/ 1000 €	HOSPIT AL %	WHOLE SALE PRICE/ 1000 €	HOSPIT AL %	WHOLE SALE PRICE/ 1000 €	HOSPIT AL %	WHOLE SALE PRICE/ 1000 €	HOSPIT AL %
B	BLOOD AND BLOOD FORMING ORGANS	195 895	34	177 373	37	162 148	37	153 130	38
B01	ANTITHROMBOTIC AGENTS	77 885	24	64 969	28	58 815	31	54 309	33
B01A	ANTITHROMBOTIC AGENTS	77 885	24	64 969	28	58 815	31	54 309	33
B01AA	Vitamin K antagonists	3 676	2	3 520	3	3 223	3	3 123	3
B01AB	Heparin group	24 794	43	24 229	45	22 777	47	21 168	50
B01AC	Platelet aggregation inhibitors excl. heparin	17 828	7	18 594	7	19 359	6	19 789	7
B01AD	Enzymes	4 585	100	4 716	100	4 601	100	4 494	100
B01AE	Direct thrombin inhibitors	7 639	9	5 157	13	4 454	21	3 660	30
B01AF	Direct factor Xa inhibitors	18 495	4	8 312	5	3 984	6	1 899	9
B01AX	Other antithrombotic agents	867	82	441	72	418	62	176	20
B02	ANTIHEMORRHAGICS	57 586	29	54 705	34	47 073	30	42 317	27
B03	ANTIANEMIC PREPARATIONS	24 906	20	24 172	19	24 078	19	24 105	22
B05	BLOOD SUBSTITUTES AND PERFUSION SOLUTIONS	31 333	79	29 798	80	28 640	78	29 228	79
B06	OTHER HEMATOLOGICAL AGENTS	4 186	28	3 729	27	3 542	25	3 170	22

HOSPITAL % Sales to hospitals and other health care units

Hur fördelas då konsumtionen av orala antikoagulativa läkemedel efter intåget av NOAC-medicinerna? Det kunde ju tänkas att användningen av warfarinet reducerats avsevärt, men så verkar inte fallet vara. I tabell 2. kan med all önskvärd tydlighet konstateras att warfarinet håller sin position väl. Från säkerhets- och utvecklingscentret för läkemedelsområdets (Fimea) statistik över läkemedelsdistribution i Finland framgår det att doser per 1000 invånare och dag minskade visserligen försäljningen av warfarin från 17,04 år 2014 till 16,04 2016. Detta samtidigt som den totala användningen av direkta faktor Xa hämmare ökade från 0,76 år 2014 till 3,94 år 2016. Av denna ökning stod rivaroxaban för största delen, eller 2,75 och apixaban för 1,19 . Dabigatran ökade under samma tidsperiod från 0,73 till 1,52. Det är möjligt att försiktighet och ett visst mått av misstänksamhet råder mot de fortfarande relativt nya NOAC-medicinerna. (Fimea 2017).

Det går dock inte att undgå en annan väsentlig detalj i sammanhanget, nämligen merkostnaden som det innebär att välja NOAC framför det beprövade warfarinet. Ur tabellen i figur 2. framgår klart att det är fråga om en väsentlig prisskillnad då totala försäljningen av NOAC år 2016 landade på 19.362.000 euro i jämförelse med warfarinets totala försäljning om 3.676.000 euro. Då skall man komma ihåg att warfarinkonsumtionen vida överstiger den av NOAC. (Fimea 2017).

Direkta perorala trombinhämmare, dabigatran

Dabigatranetexilat är en direkt, peroral trombinhämmare vars indikationer är ganska långt liknande som för de direkta, perorala, faktor Xa hämmande antikoagulativa medicinerna. Direkt syftar i dessa fall på att de utan omvägar påverkar en specifik faktor, till skillnad från warfarinet som verkar genom att hämma k-vitaminsyntesen, vilket i förlängningen hämmar flera koagulationsfaktorer. Till indikationerna för dabigatran hör ventrombos och lungemboli, embolism förknippad med förmaksflimmer och efter knä- och höftleds-kirurgi som profylax mot ventrombos. (Mustonen & Lepäntalo 2015, s. 582).

Dabigatran avlägsnas från kroppen med urinen upp till 80 % och försämrad njurfunktion kan därför leda till att ämnet ackumuleras i kroppen och vid grav njurinsufficiens skall det helt undvikas. Tidigare försök till trombinhämmare har lidit av en besvärlig bieffekt, nämligen toxiska effekter på levern. Liknande effekter har inte noterats med dabigatran. Fördelarna med läkemedlet är en stor terapeutisk bredd, läkemedlet verkar snabbt och verkan avtar också snabbt och kräver ingen regelbunden monitorering. Kontraindikation för dabigatran är graviditet och amning, patient med konstgjord klaff och kraftiga njurskador. Övriga nackdelar är att dabigatran är relativt dyrt och i jämförelse med warfarin existerar ganska lite information över funktion och risker. (Mustonen & Lepäntalo 2015, s. 582).

Den farmakokinetiska profilen av dabigatran kännetecknas av en snabb hydrolysering av etexilatet till den aktiva formen dabigatran efter oral administration. Effekterna av ämnet startar omedelbart och högsta nivå i plasma såväl som maximal antikoagulation uppnås inom 2-3 timmar efter administration. Studier gjorda på patienter under höftledsoperationer och vid preventiv behandling mot stroke vid förmaksflimmer har pekat på tydlig korrelation mellan nivå av dabigatran i blodplasma och nivå av antikoagulation. (Ryn et. al. 2010, s. 1117).

Direkta perorala faktor Xa-hämmare

Rivaroxaban

Rivaroxaban är en direkt hämmare av såväl fri som protrombinaskomplexbundet faktor Xa. Rivaroxaban ges vanligtvis en gång i dygnet. Under de tre första veckorna vid behandling för venös trombos och lungemboli kan dosen vara två gånger i dygnet. Användningsområden för Rivaroxaban är förutom vid ventrombos och lungemboli, även vid embolism förknippad med förmaksflimmer, efterbehandling vid akut hjärtinfarkt och efter

knä- och höftleds-kirurgi som profylax mot ventrombos. Huvudsaklig elimineringsväg är levern, där ämnet metaboliseras. En tredjedel elimineras via njurarna förutsatt att de fungerar normalt. Försämrad eller kraftigt försämrad njurfunktion skall tas i beaktande vid dosering. Leversjukdom förknippad med koagulationsstörning är kontraindikation för behandling med rivaroxaban. (Mustonen & Lepäntalo 2015, s. 580).

Apixaban

Apixaban är även den en selektiv och direkt hämmare av Faktor Xa. Att det är fråga om en direkt hämmare betyder i detta fall att det ej involverar antitrombin. Apixaban liksom rivaroxaban har visat sig ge god eller bättre effekt än enoxaparin. De båda förstnämnda har flera eliminationsvägar men har inte använts vid allvarlig njursvikt. (Schulman 2012, 303). Apixaban blockerar såväl fritt som koagulationsbundet FXa. Flera substanser med samma funktionsmekanism är under utprovning och kan alltså bli registrerade läkemedel inom kort. (Schulman 2012, s. 303).

Edoxaban

Edoxaban säljs under det kommersiella namnet Savaysa. Det blev i USA godkänt av FDA (Food and Drug Administration) år 2015. Det är i likhet med ovan nämnda rivaroxaban och apixaban en oral, direkt, hämmare av FXa. Dosering sker en gång dagligen. (Drugs.com).

Neutralisering av nya orala antikoagulativa

Ett av nackdelarna med warfarin har varit de många interaktionerna med andra läkemedel och en hel del livsmedel. Som en effekt av detta har regelbunden uppföljning av effekten varit nödvändig och därmed regelbundna blodprov som följd. Detta kan vara ett problem för människor med funktionshinder och svårigheter med att ta sig till närmaste provtagning. Till fördelarna med warfarin kan däremot räknas att det är ett mycket väl beprövat ämne och dess effekt är relativt enkel att neutralisera. (Huisman & Fanikos 2016, ss. 89–96).

Det är just på denna punkt som de nya orala antikoagulativa medicinerna har sin kanske största brist. Under många omständigheter som innebär blödning i någon form blir tillvägagångssättet helt enkelt att avbryta administrering av NOAC åtföljt av ett väntande på avklingande effekt. Men med tiden har även detta problem närmast sin lösning. Ett ämne som skall klara av att neutralisera dabigatran är idarucizumab. Mot direkta hämmare av FXa är andexanet alfa det ämne som anses vara närmast ett godkännande för användning. Idarucizumab har dock inte varit godkänt under någon längre tid och med tiden kommer

säkert dess användning och fortsatt forskning runt ämnet leda till flera svar. Frågor som när det är tryggt att upprepa administrering, kombinera idarucizumab med protrombin och hur snart efter neutralisering man kan återuppta behandling med dabigatran behöver ännu mera forskning för att kunna svaras på ett adekvat sätt. (Huisman & Fanikos 2016, ss. 89–96).

Idarucizumab

Idarucizumab är ett humaniserat monoklonalt mus-antikroppsfragment som binder dabigatran och motverkar dess antikoagulativa effect. Idarucizumab (aDabi-Fab, BI 655075, Boehringer Ingelheim, Ingelheim am Rhein, Tyskland), har en extremt hög affinitet för dabigatran och binder till detta nära på 350 gånger starkare än vad dabigatran gör till protrombin. Verkningsmekanismen för idarucizumab liknar den hos antidotfragmentet för digoxin. Administrering sker genom infusion intravenöst och högsta koncentration uppnås kort efter slutförande. Idarucizumab verkar inom blodkärlets väggar där det binder såväl fritt som trombinbundet dabigatran. Trombinhämmaren har förmåga att även söka sig utanför blodkärlet till det extracellulära utrymmet, men idarucizumab har förmågan att kunna dra till sig även dabigatran som har sökt sig utanför blodkärlet. Idarucizumab är snabbverkande med en halveringstid på ungefär 45min. Elimineringsväg för komplexbundet idarucizumab är huvudsakligen via njurarna. (Huisman & Fanikos 2016, ss. 89–S96).

Även om Idarucizumab till sin struktur liknar den hos trombinet har dabigatran-hämmaren ingen prokoagulativ verkan. I första fasens studier uppvisade idarucizumab mycket stabila koagulationsparametrar över ett brett spektrum av doser. Testerna visade även att ämnet var säkert och ett effektivt sätt att neutralisera den antikoagulativa verkan av dabigatran. Man fann att de bästa metoderna för att utvärdera verkan av dabigatran och neutralisering med idarucizumab var diluted thrombin time, dTT och Ecarin clotting time (ECT). Förhöjningar i dT-tid och EC-tid framkallade av dabigatran, återgick till det normala efter administrering av idarucizumab. Återgången upprätthölls under 72 timmar för doser större än 2g. Idarucizumab resulterade även i koncentrationen av obundet dabigatran i plasman reducerades till lägre detektionsgränser. (Hu et. al. 2016).

I en stor undersökning som kallades RE-REVERSE framkom det att idarucizumab omedelbart neutraliserade effekten av dabigatran, men i en del patienter hände det att koncentrationen av fritt, obundet dabigatran, ökade efter 12 eller 24 timmar, åtföljt av förlängda dTT- och ECT-tider. Detta fenomen tros bero på den mängd dabigatran som återvänder till blodkärlet från omkringliggande vävnader. Fenomenet understryker behovet

av godkända och tillgängliga test för att kunna utvärdera effekten av dabigatran. Det kan vara skäl att överväga ytterligare dos av idarucizumab vid händelse av återkommande blödning av klinisk relevans i kombination med förlängda koagulationsparametrar. På samma sätt kan det bli aktuellt att överväga tilläggsdos vid upprepade akutgrepp. Frågetecken kvarstår dock då det gäller åtgärder av denna typ. (Huisman & Fanikos 2016, ss. 89–S96)

Som alltid är det en ekonomisk avvägning mot nyttan då nya ämnen och behandlingsmetoder övervägs, så även i detta fall. Enligt en rapport publicerad av Fimea, kort efter att idarucizumab i december 2015 blev godkänt, hävdar man att estimeringen över en behandling med idarucizumab skulle kosta i närheten av 2500 euro. Med ett minskat behov av andra blodprodukter vid en sådan behandling skulle den faktiska kostnaden landa någonstans mellan 1000 – 1700 i jämförelse med behandling utan substansen. Med ett uppskattat behov av cirka 100 patienter i året i Finland skulle det betyda en kostnad på mellan 100,000 – 170,000 euro. (Fimea 2017).

Ciraparantag

Ett annat ämne under utveckling för neutralisering av antikoagulativ verkan är ciraparantag (PER977, Perosphere, Danbury, CT, USA). ciraparantag är en liten syntetisk, katjonisk molekyl, som binder direkta faktorXa antagonister, direkta trombininhibitorer och ofraktionerat, lågmolekylärt heparin (LMWH) genom icke kovalenta vätebindningar och laddningsbaserade interaktioner. Det har publicerats lite data över verkningsmekanismerna hos ciraparantag. I de studier som offentliggjorts krävde edoxaban de minsta doserna för full neutralisering. Studier utförda på humant blod, ex vivo, pekade på en dosberoende verkan mot rivaroxaban och apixaban. Uppskattningen gjordes genom att mäta anti-Xa aktivitet. Det observerades ingen prokoagulativ verkan av ciparantag under dessa studier. (Hu et. al. 2016).

Andexanet alfa

Andexanet alfa är en inaktiverad och rekombinant form av FXa. Det är utvecklat som ett universellt motmedel mot faktor Xa hämmare. Andexanet alfa (PRT06445) är utvecklat av Portola Pharmaceuticals, San Francisco, CA, USA. Förutom till specifika FXa hämmare binder andexanet alfa även till lågmolekylärviktshepariner (LMWH) och fondaparinux-aktiverat antitrombin III, vilka fungerar indirekt som FXa inhibitorer. Andexanet alfa fungerar genom att agera falsk FXa och med hög affinitet binda till hämmare av denna

specifika faktor. Detta leder till en minskad koncentration av obundna FXa hämmare i blodplasmat. Andexanet må ha strukturella likheter med den faktor den strävar till härma, men den saknar helt katalytiska egenskaper för koagulation och samverkar inte överhuvudtaget med några plasma-koagulationsproteiner med undantag för tissue factor pathway inhibitor (TFPI). (Hu et. al. 2016).

6 Laboratorieundersökningar

Kapitlet behandlar preanalytiska, analytiska och postanalytiska aspekter. Utöver detta redogörs för några koagulationsundersökningar inklusive en kort historik.

6.1 Preanalytik

Rent allmänt har de kliniska laboratorieanalyserna blivit en alltmer väsentlig del av vården. De är idag en naturlig del av beslutsprocessen då det rör diagnosticering, bekräftande av teorier, behandling och uppföljning. Läkare har med tiden fått tillgång till en ständigt ökande repertoar av analyser och metoderna har blivit allt mera sofistikerade. I många fall har även analysprocessen blivit snabbare och tillhandahåller svar efter allt kortare tider. Baksidan av denna bredd av möjligheter till olika laboratorietest är att risken för feltolkningar och felaktigt användande. Inte sällan söker läkare efter definitiva svar ur analyserna, vilket inte kanske alltid är fallet. Man kanske förväntar sig att närvaro av sjukdomssymtom automatiskt skall ge abnorma värden, eller att ett normalt provsvar betyder att den sjukdom man försöker bekräfta inte finns hos patienten. Det är nödvändigt att ta i beaktande den komplexa natur som laboratorieprocessen utgör. Svaren skall närmast ses som riktgivande eftersom man aldrig kan garantera 100% att inga variabler i kedjan har påverkat detta i en eller annan riktning. Förutom närvaro eller avsaknad av sjukdom påverkas svaret även av fysiologiska faktorer och direkta problem i anknytning till analysen. Läkaren som skall försöka sig på en tolkning har inte kontroll över dessa. (Annesley 1994, s. 77).

6.1.1 Interna preanalytiska faktorer

Bland de olika faktorerna som berör den preanalytiska biten hör olika intraindividella faktorer eller interna faktorer som nivå av normal diures, dag till dag och säsongsbetonade variationer i koncentration av uppmätta komponenter i biologiska vätskor. Effekter av kön, även om dessa inte alltid är signifikanta ur ett kliniskt perspektiv. Till exempel har vuxna kvinnor lägre halter av hemoglobin och ferritin i blod, samt lägre halter av järn i serum, detta

som konsekvens av menstruationen. Under samma kategori av preanalytiska faktorer faller även åldersrelaterade variationer. Man har genom tiderna räknat med minst fyra åldersgrupper, nyfödda, prepubertala barn, vuxna, samt gamla, eller den geriatriska befolkningen. Gränserna mellan grupperna är aldrig exakta eftersom den kronologiska åldern och den biologiska inte löper parallellt genom populationen. Som ett exempel kan nämnas koncentrationen av bilirubin i blodet hos nyfödda. I jämförelse med vuxna, vilket oftast används som referensram och mot vilken den pediatrika och geriatriska gruppen jämförs, har de nyfödda avsevärt högre koncentration av bilirubin. Den totala halten av bilirubin minskar kraftigt under de två första levnadsveckorna för att nå samma nivå som hos vuxna inom 30 dygn. När det gäller den geriatriska gruppen hittar vi en för sammanhanget intressant faktor. Under medelåldern och uppåt i ålder minskar njurstorlek och antalet fungerande nefron. Glomerulärfiltrationen och tubulära utsöndringskapaciteten minskar stadigt efter 30 år. Ett faktum som är signifikant då man diskuterar nya orala antikoagulativa. (Annesley 1994, s. 77-81).

6.1.2 Externa preanalytiska faktorer

Till de externa faktorerna hör motion och fysisk träning, vilket kan ha både kort och långtidsinverkan på koncentrationen av biomolekyler i blod och urin. En för sammanhanget viktig effekt är att kraftig träning kan ge en tillfällig, kortvarig aktivering av koagulation, trombocyttaktivering och prostaglandinsystem. Koagulationsfaktorerna VIII och Xa uppvisar ökning under träning medan trombocytfaktor IV minskar. Andra externa faktorer som kan påverka ett analysresultat i mer eller mindre utsträckning är graviditet, dieter och näringsintag, bruk av stimulerande ämnen såsom koffein, nikotin och alkohol, kroppsställning vid provtagningstillfället, teknik vid provtagning, samt transport och hantering av prov. (Annesley 1994, ss. 81-85). Då det gäller tekniken vid själva provtagningstillfället är de av stor vikt för resultatet vid koagulationsanalyser. I ett kompendium av Eva Mauritzson, sammanställt för Laboratoriemedicin, region Skåne, understryks preanalytiska aspekter som användning av stas (max en minut), ordningsföljd för rören, fyllnadsgrad och blandning. (Mauritzson u.å. Preanalytik utbildning).

6.2 Det analytiska skedet

Då det gäller analysen av antikoagulativa läkemedel gäller detta med svårtolkade analysresultat i allra högsta grad. Problemet är att warfarinet är väl beprövat men de nyare orala trombinhämmarna och faktor Xa-hämmarna har inte funnits under så lång tid att

interaktioner och verkningar är fullt ut kartlagda. I regel behöver inte dessa nya läkemedel rutintester, men det kan uppstå situationer då klinisk personal behöver kunna bedöma den antikoagulatoriska verkan av läkemedlen, till exempel vid misstanke om över eller underfunktion. Detta i kontext med njurproblematik, metabolism, hög ålder, grav övervikt, gastrointestinala problem, eller kanske interaktioner med andra läkemedel. Andra orsaker till ett behov av att veta nivån av antikoagulatorisk verkan kan vara i samband med akuta operationer, stora trauman eller patienter med trombolytisk terapi. (Cuker 2016, ss. 241-247).

I en större norsk undersökning konstaterar man att det behövs mera kunskap om hur man skall följa upp patienter med behandling med NOAC, hurdana tester man skall använda och hur man skall tolka svaren från dessa. Nya artiklar om utvärdering av antikoagulationsgrad och laboratorieanalyser skrivs kontinuerligt, ett stort problem kvarstår dock, det är inte riktigt klarlagt vid vilka nivåer risken för komplikationer ökar. (Kristoffersen et. al. 2013, s. 23).

Att mäta koncentrationen av läkemedel i blodplasmat med metoder som vätskekromatografi (LC) och masspektrometri (MS) är helt möjligt, men metoderna har sina begränsningar. Ett idealtest skulle uppvisa en hög grad av överensstämmande med läkemedelsnivåer uppmätta med LC-MS, det vore känsligt för ett brett spektrum av koncentrationer och tillräckligt känsligt för att mäta den lägsta, kliniskt relevanta nivån. Ur en praktisk synvinkel borde analysen i fråga vara tillgänglig dygnet runt alla dagar i veckan och med en kort processtid för att svara mot akuta behov av mätning. (Cuker 2016, ss. 241-247).

6.3 Postanalytik

Även om alla moment i kedjan fram till skedet efter analysen, det postanalytiska skedet, har fungerat bra kan det fortfarande ske incidenter som påverkar vårdgången och i slutändan har effekter för patienten. Man skulle kunna uttrycka det som att allt arbete som blivit gjort fram till dess att ett analysresultat erhållits är bortkastat om resultatet inte når beställaren, den läkare som ordinerat testet, i tid. Det vill säga, det är viktigt att rapportering av resultat fungerar och att detta sker utan dröjsmål så att behandling kan ta vid så fort som möjligt. Desto mera kritiskt sjukdomstillstånd det handlar ju viktigare är det att omgående hitta den rätta planen för behandling. Det är därför viktigt med utbildad personal i laboratoriet, vilket ökar chanserna för att upptäcka och reagera på abnormaliteter i provsvar. (Annesley 1994, s. 88; Fischbach 2000, ss. 24-31).

Det är i sammanhanget viktigt att informationsgången håller och avvikelser blir noterade och dokumenterade på ett sådant sätt att även den tolkande läkaren har en chans att särskilja mellan avvikelser som beror på problem eller incidenter i de tidigare analytiska skedena, tex., hemolys i blodprov, eller om det handlar om hos patienten kliniskt relevanta avvikelser som kan ha stor betydelse för behandling. För att tolkande läkare skall ha en lättare uppgift bör analysvar inklusive avvikelser och relevant information förmedlas enligt standardiserade metoder. (Annesley 1994, s. 88; Fischbach 2000, ss. 24-31).

Etiska aspekter bör beaktas så att inga personer som inte behöver ta del av informationen i laboratoriesvaren avsiktligt eller av misstag gör så. Rutiner runt sekretess bör hålla sådan standard att det inte skall vara möjligt för personer utanför vårdkedjan att läsa konfidentiella patientuppgifter. (Annesley 1994, s. 88; Fischbach 2000, ss. 24-31).

6.4 Tromboplastintid

PT och behovet av INR, en återblick

Protrombintid (PT) introducerades av Armand J. Quick 1935, redan före de orala antikoagulativa upptäcktes. Alltsedan har metoden varit nästan universell för kontroll av orala antikoagulativa läkemedel. Quicks test var ursprungligen utvecklat för att upptäcka koagulationsstörningar i hönsfåglar, men anpassades dock senare för kontroll av antikoagulativa, orala läkemedel. Även om PT som metod blev mycket utbredd lyckades den inte göra doseringen av orala antikoagulativa säker ur en patientsynvinkel, detta på grund av variationer i tromboplastinet i PT och olika tillvägagångssätt vid analysvar, dvs, svar i sekunder, aktivitetsprocent, indexprocent samt proportion. (Poller 2004, ss. 849–860).

Det var brukligt på många sjukhus att eget tromboplastin tillverkades från human hjärnvävnad, detta kom att ersättas under 1950-talet med kommersiella produkter med animaliskt ursprung. Fördelarna var uppenbara, det var mycket praktiskt att avskaffa den egna tillredningen och man trodde sig kunna uppnå en högre standardiseringsgrad med de köpta tromboplastinerna. Men den senare fördelen uteblev, tvärtom, problemet med variationer förvärrades. Detta berodde på att de kommersiella tromboplastinerna hade olika animaliska ursprung. Detta parat med föroreningar av plasma gjorde att känsligheten varierade. Laboratorierna hade inte enats över betydelsen av svaren och den kliniska betydelsen av förändringarna i tromboplastin hade inte studerats, resulterande i högre doser av antikoagulantia för att kompensera de lägre PT tider det okänsligare tromboplastinet

orsakade. I förlängningen innebar detta högre risker för blödningskomplikationer och ett svalnande intresse för antikoagulantia. (Poller 2004, ss. 849–860).

I början av 1980-talet publicerades två studier av avgörande betydelse för den fortsatta övervakningen av antikoagulativa behandlingar. Studierna pekade på skillnader regionalt vad dosering av warfarin beträffade. Den genomsnittliga dagliga dosen varierade från 2 till 8 mg. De högsta doserna uppmättes i Nordamerika där kommersiella tromboplastiner var vanliga, medan betydligt lägre doser användes i t.ex. Storbritannien där det fortfarande var vanligt med humant tromboplastin med högre känslighet än det kommersiella. (Poller 2004, ss. 849–860).

En Internationell kommitté för trombos och hemostas / standardisering (international committee on thrombosis and haemostasis / international committee for standardization in haematology), studerade olika möjligheter till en lösning på variationerna, ett standardiserat tillvägagångssätt som kunde utjämna skillnaderna i reagens och metodik. Genombrottsrapporten som proklamerade INR (international normalized ratio) förslaget kom från Dr Tom Kirkwood. (Poller 2004, ss. 849–860).

Kirkwood arbetade vid början av 80-talet för det nationella institutet för biologiska standarder och kontroll i Storbritannien. Han fann att det existerade betydande skillnader i resultat mellan olika koagulationsanalyser. Hans metod innebar att man utjämnde skillnaderna för olika tromboplastiner med en internationell kalibreringsmetod och utarbetade en skala, INR, kort för international normalized ratio. (Newcastle university 2017). Hans rapport påpekade brister i den statistiska modell som hade använts sedan 1977 som referensmodell av WHO och föreslog därför en omarbetad modell som WHO omfattade 1983. (Poller 2004, ss. 849–860). I "clinical laboratory medicine" som utgavs 1994 beskrev Douglas A. Triplett hur införandet av INR hade betonat vikten av lägre doser för orala antikoagulativa medel (Triplett 1994, s. 1091).

TT, eller tromboplastintid, på engelska PT, eller prothrombine time, har ofta blivit kallat Quicks Protrombintid, efter Quick som först beskrev metoden. TT eller PT utvecklades som namnet förtäljer till att mäta protrombin, eller faktor II. Det uppdagades emellertid snart att testet även var känsligt för avvikelser hos faktorerna VII, X, V, II och fibrinogen. TT mäter aktiviteten hos koagulationens så kallade yttre (extrinsic pathway) och gemensamma (common) väg. Indelning av koagulationskaskaden på detta sätt är emellertid ganska förlegat och har svag validitet in vivo, men tjänar fortfarande sitt syfte då det kommer till tolkning av laboratorieundersökningar. Tromboplastintid är ett enstegstest som baserar sig på tiden

det tar för ett koagel att bildas efter tillsats av vävnadstromboplastin, (tissue factor), fosfolipider och kalcium till centrifugerat blodplasma. Termen "tromboplastin" användes ursprungligen för att beskriva ett ämne i plasma som konverterade protrombin till trombin. (Practical-Haemostasis.com).

Tromboplastintid som international normalized ratio.

INR-värdet erhålls genom att patientens koagulationstid (tromboplastintid) delas med ett medelvärde, en normal koagulationstid. För att eliminera större skillnader mellan olika instrument och olika reagens tillämpas en korrektionsfaktor, ett index över känsligheten på olika reagens (ISI, international sensitivity index). INR-värdet anger hur många gånger längre koagulationstiden hos en patient är i jämförelse med normalt, (normaltid = 1). (Baghaei 2016, Internetmedicin).

I dagens läge (2017) ligger det terapeutiska intervallet mellan 2.0-3.0 för profylaktisk behandling mot ventrombos och systemisk embolism. Hos patienter med mekanisk klaff ligger målområdet något högre, 2.5-3.5. En frisk person utan antikoagulativ behandling landar på ett INR-värde om ca 0.7-1.2. Viktigt att notera i sammanhanget är att INR används oftast vid uppföljning av behandling med warfarin. (Ohjekirja, Huslab 2017).

Antikoagulativ behandling med warfarin är vanligt till exempel vid förmaksflimmer och sker genom oralt intag av tabletter. Högsta koncentration i blodet uppnås efter 3-9 timmar. Terapeutisk nivå uppnås vanligen efter 5-7 dygn. Warfarin hämmar bildandet av K vitaminberoende koagulationsfaktorer och verkan av dessa. Veckodosen av warfarin fördelas så jämnt som möjligt mellan dagarna för att INR värdet skall hålla sig inom det terapeutiska området. I början av behandlingen följs doseringen upp en till två gånger i veckan med blodprov och därefter vanligtvis en gång i månaden. (Raatikainen 2014).

Ett mått på hur väl patienten har lyckats med sin medicinering är det så kallade TTR-värdet. Detta står för "time in therapeutic range" och ger ett procentuellt värde över hur stor del av tiden patienten har varit inom målvärden. Beskriver hur balanserad behandlingen har varit för en patient som regelbundet intar warfarin och regelbundet följer upp sitt INR-värde. Då det gäller de nya orala antikoagulativa läkemedlen kan de ge en höjning av INR, men INR som metod är för okänslig för att mäta effekten av dessa, vilket innebär att halten av läkemedlet kan vara ganska högt utan signifikant stegring. (Ohjekirja, Huslab 2017).

6.5 Aktiverad partiell tromboplastintid

Aktiverad partiell tromboplastintid brukar vanligtvis förkortas APTT. Metoden mäter faktorer (XII, XI, IX, VIII, X, V, II, I) och deras samverkan. Metoden är den främsta när det kommer till att mäta effekten av infusion av ofraktionerat heparin. APTT är i regel inte sensitivt för det lågmolekylära heparinet (LMWH), men en förlängd APTT tid i samband med detta kan tyda på kumulativ verkan, närmast i samband med njurinsufficiens. (Leinonen, Ohjekirja, Huslab)

Termen aktiverad partiell tromboplastintid (APTT), härstammar från den ursprungliga formen av testet där bara fosfolipidkoncentrationen kontrollerades och termen "partiell tromboplastin" tillkom för koagulations-accelerande tillsats av fosfolipider. Tillsatsen korrigerade inte för förlängda koagulationstider hos hemofiliskt plasma. Partiellt betyder ytterst att fosfolipider är närvarande medan TF saknas. (Perry & Todd 2013).

APTT är som screeningmetod ensamt ospecifik och okänslig. Det terapeutiska intervallet ligger mellan 1.5-2.5 gånger förlängt APTT-värde i jämförelse med utgångsvärdet. Provet tas i Na-citrat rör, 2,7ml. Står sig oseparatorat åtta timmar i rumstemperatur. Referensintervall enligt huslab är 28 – 37 sekunder. (Ohjekirja, Huslab 2017). Vid Vasa centralsjukhus ligger referensintervallet i sekunder uttryckt mellan 23-35. (Laboratoriehandboken, Vasa centralsjukhus).

7 Metoder för examensarbetet

Målet med denna mikrostudie var att fastställa huruvida APTT vid Vasa centralsjukhus kunde fungera som metod för att påvisa verkningsgrad av dabigatran. På centralsjukhuset använder man sig av dabigatran, eller Pradaxa som det heter kommersiellt, vid flera avdelningar i samband med operation. Exempelvis inre medicinska, neurologiska och akutavdelningen för hjärtövervakning (CCU) är avdelningar som använder sig av dabigatran. Av intresse var att undersöka om APTT med reagenser från nuvarande leverantör kunde lämpa sig för att undersöka huruvida den antikoagulatoriska verkan hos en patient som getts dabigatran skulle kunna mätas eller i alla fall uppskattas. Undersökningen genomfördes vid Vasa centralsjukhus, kliniska laboratoriet under slutet av april 2017. Experimenten genomfördes under handledning av sjukhuskemist Jukka Salminen.

Ett experiment kan definieras som en empirisk undersökning under kontrollerade förhållanden, utformad för att utreda egenskaper av, eller förhållandet mellan specifika

faktorer. (Denscombe 2014, s. 65). Vad innebär då kontrollerade förhållanden och vad är poängen med detta förfarande? Denscombe (2014, s. 65) menar att syftet med att utföra experiment är att isolera enskilda faktorer och studera effekten av dessa i detalj för att om möjligt upptäcka nya samband eller egenskaper hos det studerade materialet. Syftet kan även vara att pröva existerande teorier. I hjärtat av ett experimentutförande ligger tre aspekter: identifiering av orsakande faktorer. Genom att lägga till eller avlägsna faktorer från situationen kan forskaren sätta fingret på den faktiska orsaken bakom det observerade resultatet. Kontroller, experiment involverar manipulation av variabler i nyckelposition. Forskaren behöver identifiera signifikanta faktorer och sedan lägga till eller ta bort dem från situationen för att observera vad som händer. Den sista aspekten är empiriska observationer och mätningar. Experiment vilar på detaljerade observationer och noggranna mätningar av eventuella förändringar orsakade av nyckelfaktorer. (Denscombe 2014, ss. 65-66)

Undersökningen var en kvantitativ undersökning. Målet med en kvantitativ studie är att mäta ett fenomen så att det kan återges med siffror. Ett fenomen som uttryckts kvantitativt kan analyseras kvantitativt eller med hjälp av statistiska metoder. (Denscombe 2014, s. 325).

Rent praktiskt var just dessa experiment en mätning av viskositetsökning i provmaterialet.

8 Undersökningens genomförande

Den första undersökningen gjordes för att undersöka om det fanns ett samband mellan APT-tider och dabigatran. För ändamålet sparades patientprover på vilka APT-tid redan hade blivit uppmätt. Tanken var att med hjälp av en dabigatrananalys jämföra APT-tiderna mot dabigatrankoncentration. Proverna sparades på Vasa centralsjukhus, kliniska laboratoriet. Antalet prover begränsades av mängden dabigatran-reagens och undersökta prover blev därför 26 till antalet. Det var inte känt vilken behandling patienterna fick, den enda tillgängliga bakgrundsinformation var APT-tid. De konstaterades emellertid att en andra undersökning kunde ge mera svar på frågan om APTT kunde vara en lämplig metod för att mäta verkningsgrad av dabigatran. Som andra undersökning undersöktes därför APT-tider på en serie med plasmaprover. Båda undersökningarna redovisas parallellt.

8.1 Metodprinciper för undersökningar

Metodprinciper för dabigatranundersökning

Som mätmetod för den första undersökningen användes STA-ECA II, ett test för mätning av dabigatran. Testkitet är ämnat för mätningar på STA-R- och STA Compact Max maskiner från Stago. En kort presentation av företaget följer under avsnittet ”apparatur och reagenser”. Metoden mäter aktiviteten av dabigatran (direkt anti Faktor IIa) med hjälp av ett syntetiskt, kromogent substrat. Själva reaktionen bygger på klyvningen av protrombin med ecarin som är ett ormgiftsmetalloproteas med härstamning från *Echis Carinatus*. Produkterna från denna reaktion förmår i sin tur klyva ett kromogent substrat varvid paranitroanilin frigörs. Dabigatran har förmåga att hämma denna andra klyvning. Mängden paranitroanilin kan mätas vid 405nm och är omvänt proportionell mot mängden trombinhämmare (Stago 2015).

Metodprinciper för APT-tid

Mätmetod för det andra testet var APTT. Principen är att man mäter den inre vägens koagulation och den gemensamma, se kapitel 6.6. Undersökningen baserar sig på mätning av plasmaprover med tillsatta standarder med kända koncentrationer av läkemedel (dabigatran). Standarderna härstammade från Stagos kalibreringsserie för dabigatranundersökningar. Koagulationstiden mäts med spektrofotometri. En spektrofotometer är ett optiskt instrument som används för att upptäcka olika ämnen, bestämma renhetsgraden eller halten på/av dessa. Funktionsprincipen för spektrofotometri baserar sig på Lambert-Beers lag om ljusets absorption i olika ämnen. Vanligt är att olika våglängder av synligt ljus eller av ultraviolett ljus mäts. I specialfall används även fluorescerande ljus eller infraröda strålar. (Solunetti 2006). I detta fall mäts absorbans av monokromatiska strålar vid frekvenserna 405nm och 540nm (Stago 2017).

Apparatur och reagenser.

Dabigatranundersökningen utfördes på STAR-R Evolution från Stago. (figur 2). Maskinen är tillverkad för främst koagulationsanalyser på plasma. Ett tjugotal olika undersökningar är möjliga att utföra på STA-R Evolution, däribland APTT, P-TT-INR och STA-ECA II. Stago grundades år 1945 som ett farmaceutiskt laboratorium och arbetar i dagens läge med diagnostik för olika analyser. Bolaget sätter fokus på utrustning för undersökningar av hemostas och trombos. (Stago u.å.). Reagenskitet från Stago, ämnat för dabigatranundersökning innehåller tre olika reagenser, protrombin, substrat och ecarin, (se metodprinziper för dabigatranundersökning). Utöver dessa behövs för analysen Owren-Koller (en buffertlösning för utspädning av reagenser och plasma), samt lösningar för kalibrering och kontroll. (Stago 2015).

Provmaterialet härstammade från patientprover med kända APT-tider. Det var avskilt plasma i numrerade rör. Plasmat hade samlats av laboratoriets personal och förvarats i frys. Därmed hanterades ingen patientinformation under arbetets gång.



Figur 2. Stago STA-R Evolution

Reagens för APTT var STA-cephascreen. Till skillnad från reagenset för P-TT-INR som innehåller tromboplastin är det kalcium, en standardiserad mängd cephalin (ett trombocytsubstitut framställt ur hjärnvävnad från kanin) och en FXII aktivator, en polyfenolisk komponent som utgör reagens för APTT. Förutom nämnda cephascreen-kit behövdes Owren-Koller buffert, samt kontroller, STA-scandinorm och STA-scandipath (Salminen, Laboratoriehandboken 2015; Stago 2017). I likhet med undersökningen av dabigatran användes även för APT-tid, STAR-R Evolution från Stago, (figur 2).

Som provmaterial användes plasma med tillsats av dabigatranlösning från kalibratorer. Owren-Koller buffert användes i nollprovet. Plasmata härstammade från nio olika patientprover med uppmätta P-TT-INR-värden inom referensområdet. Proverna valdes slumpmässigt bland alla prov som analyserats under de föregående dygnet.

8.2 Utförande

Utförande av dabigatranundersökning

Frost plasma tempererades till rumstemperatur i små serier. Eftersom STA-ECA II (dabigatran) vid tidpunkten inte hörde till rutinundersökningarna var det nödvändigt att först etablera en kalibreringskurva. Efter detta mättes kontroller. Då metoden var rätt inställd och maskinen klar för bruk pipetterades plasma från ett prov i gången till ett mikrorör. Mikrorören användes för att säkerställa att mängden provmaterial skulle vara tillräcklig för analysen oberoende av varierande mängd plasma.

Mikrorören ställdes i metallhylsor som placerats i plastkassetter. Kassetterna ställdes på brickor och dessa lades i maskinen (STA-R evolution). Vid inmatningen känner givare av att en bricka är på plats. Kassetterna matas in i maskinen en i gången och rören snurras för läsning av streckkod på etiketten. I maskinen löper tre nålar över givna vektorer och pipetterar proverna till kyvetter med en metallkula som löper efter en metallskena. Kulan oscillerar i ett magnetfält till dess att provmaterialet koagulerat och avstannar kulans rörelse. Med hjälp av kolorimetriska mätningar och en algoritm kan maskinens program bestämma koagulationstiden.

Utförande av undersökningen APT-tid

Plasma från patientprov i natriumcitratrör, 2,7 ml, avskiljdes och pipetterades i ett gemensamt 6 ml rör. Plasman blandades omsorgsfullt. Med denna plasmapool som bas pipetterades proverna till mikrorör enligt följande:

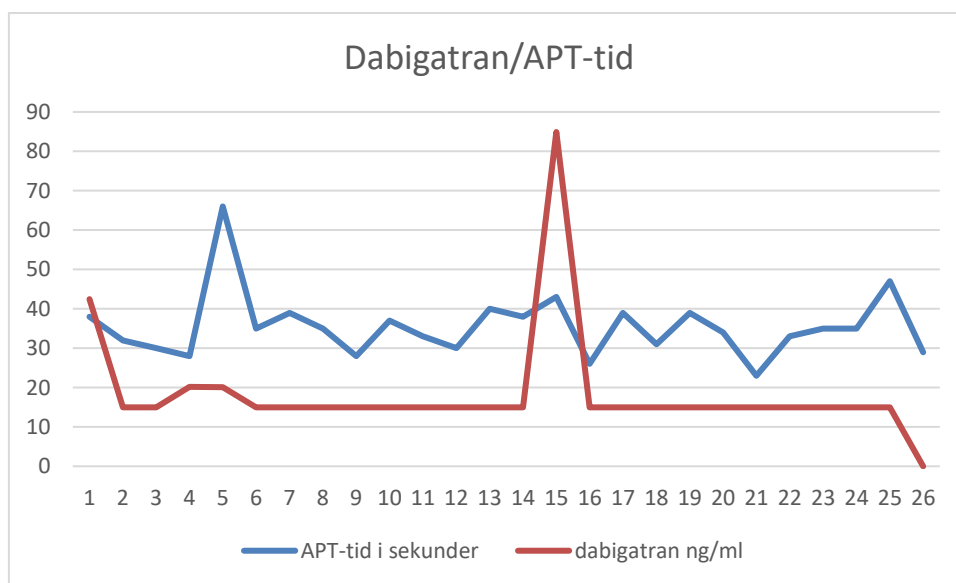
1. 500 µl plasma + nollprov utan dabigatran (owren buffert)
2. 500 µl plasma + 100 µl dabigatran standard, 49 ng/ml
3. 500 µl plasma + 100 µl dabigatran standard, 99 ng/ml
4. 500 µl plasma + 100 µl dabigatran standard, 171 ng/ml
5. 500 µl plasma + 100 µl dabigatran standard, 257 ng/ml

Förfarandet då det gäller den maskinella analysen var samma som i den första undersökningen, (se utförande, dabigatran).

8.3 Redovisning och tolkning av resultat

Resultat från dabigatranmätning

Mätningarna av dabigatrankoncentration gav rätt lite information och några klara samband mellan långa APT-tider och stora koncentrationer av dabigatran kunde inte ses, se figur 3. Med referensintervallet i åtanke, (28 – 37 sekunder enligt huslab), var det inte många prov som uppvisade markant förlängning i APT-tid. Tröskel för detektion är enligt Stagos manual 15 ng/ml, vilket innebär att största delen av proven innehöll inget eller mycket lite dabigatran, Se tabell 4. Resultatet pekar på ett behov av att begränsa antalet variabler för att kunna dra några som helst slutsatser. För att begränsa påverkande faktorer var det nödvändigt att veta att inga andra antikoagulativa ämnen förutom dabigatran fanns i provmaterialet. Detta var skälet till att APT-tid blev undersökt på en serie med standarder i den andra undersökningen (APTT).



Figur 3. Resultatkurva från dabigatranmätning

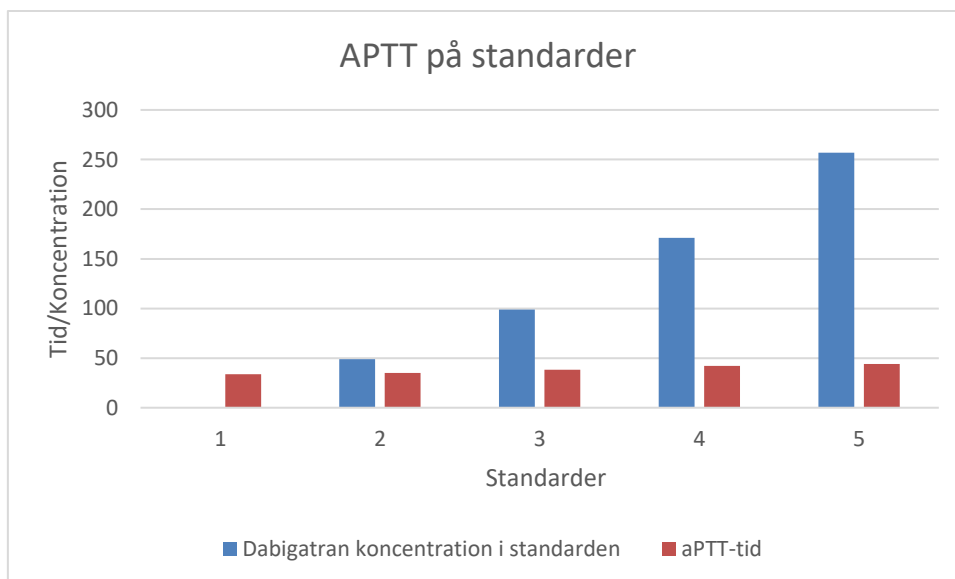
Tabell 4.

Prov nr.	APT-tid i sekunder	dabigatran ng/ml
1	38	42,42
2	32	15
3	30	15
4	28	20,2
5	66	20,09
6	35	15
7	39	15
8	35	15
9	28	15
10	37	15
11	33	15
12	30	15
13	40	15
14	38	15
15	43	84,9
16	26	15
17	39	15
18	31	15
19	39	15
20	34	15
21	23	15
22	33	15
23	35	15
24	35	15
25	47	15
26	29	-

Resultat från APTT- mätning:

1. 500 μ l plasma + nollprov utan dabigatran (owren buffert): 33,9 sekunder
2. 500 μ l plasma + 100 μ l dabigatran standard, 49 ng/ml: 35,0 sekunder
3. 500 μ l plasma + 100 μ l dabigatran standard, 99 ng/ml: 38,4 sekunder
4. 500 μ l plasma + 100 μ l dabigatran standard, 171 ng/ml: 42,3 sekunder
5. 500 μ l plasma + 100 μ l dabigatran standard, 257 ng/ml: 44,0 sekunder

Mätningen visade en linjär förlängning av APT-tiden från nollprovet mot den högsta koncentrationen, se figur 4. Noterbart är att koncentrationen av dabigatran är alltså före utspädning med plasma från den samlade plasmapoolen.



Figur 4. Mätning av standarder.

Liknande resultat har gjorts i andra studier. I en tysk studie från 2010 konstaterar man att en förlängning i APTT-tid sker i en ökning av dabigatran plasmakoncentration. Kurvan över koncentrationsrespons planar dock ut vid högre koncentrationer (från och med 200ng/ml och uppåt). Man fann även att mätningen av APTT kunde variera beroende på typen av koagulometer och reagens. Det utfördes därför jämförande undersökningar med olika reagenser och koagulometrar mellan ett stort antal lokala laboratorier och ett referenslaboratorie. Tillvägagångssättet var liknande som det i ministudien på Vasa centralsjukhus, nämligen med samlad plasma till en pool och tillsatt dabigatran. Reservationer rörande APTTs lämplighet för exaktare mätning av antikoagulativ verkan görs dock. Det anses att mycket höga APTT värden bör förankras med andra tester som ECT (ecarin clotting time) och dilute TT (Hemoclot). Trots dessa reservationer anser man i studien att APTT kan vara ett användbart verktyg vid bestämning av koagulativ verkan, om än med ett mått av försiktighet vid tolkning av förändringar i APTT vid behandling. (Ryn et. al. 2010, ss. 1117-1118).

I en artikel publicerad i Journal of thrombosis and thrombolysis lyfter man fram motsvarande slutsatser. Uppfattningen av en linjäritet i förhållandet mellan ökad mängd dabigatran och ökad APTT-tid upp till koncentrationer av 200-300ng/ml och efter det en planande kurva. Det pekas i all synnerhet på skillnader i olika APTT metoder. Slutsatsen av en jämförelse mellan nio olika aPTT metoder blev att plasma med tillsatt dabigatran i en mängd av 120ng/ml resulterade i tider från 26,0 till 91,9 sekunder. Det minst känsliga reagenset krävde en koncentration av dabigatran på uppskattningsvis 400ng/ml för att åstadkomma en fördubbling av APTT-tiden från baslinjen. (Cuker 2016, s. 241-247).

I en norsk studie av färskare datum talar resultatet för att de vanligaste APTT metoderna i användning kommer att visa ökade värden och värden över referensgränsen vid terapeutiska doser av Dabigatran. Ett förslag till kvalitativ utvärdering av APTT vid behandling med dabigatran ingår i publikationen, se tabell 5. (Kristoffersen et al. 2013, ss. 18-19).

Tabell 5.

APTT	Koncentration i plasma
Förlängt	Hög koncentration (överdos/kumulativt)
Förlängt	Terapeutisk koncentration
Normalt	Låg eller ingen koncentration

Karen S. Brown et al. hävdar i en artikel publicerad så sent som 2016 i Critical Care, att APTT kan användas som metod för att uppskatta den antikoagulatoriska effekten av dabigatran och är en godtagbar test för att undersöka närvaron av den direkta trombinhämmaren. Emellertid anses även här att variationer är att förväntas och några riktlinjer vad det gäller den kliniska betydelsen av resultaten existerar inte och mera känsliga metoder för att bestämma specifika nivåer av antikoagulation inkluderar TT, diluted TT, samt ECT (Ecarin clotting time). (Brown et. al. 2016).

9 Kritisk granskning

Orienteringen av den egna undersökningen ändrade karaktär under processens gång och det finns en del lärdomar att ta med sig då det gäller upplägg. Arbetet går att granska från flera synvinklar. Ur en etisk synvinkel kan respondenten konstatera att inga patientuppgifter hanterades på ett sådant sätt att information riskerades utlämnas. Plasma från sparade APTT-prover separerades och sparades med etikett från vilken framgick enbart en nummer. Proverna avyttrades efter analys på tillbörligt sätt, i riskavfallskärl enligt rutiner upplagda på Vasa centralsjukhus.

När det gäller resultatets tillförlitlighet kan man fundera på validitet och reliabilitet. Validiteten, eller svaret på huruvida arbetet och den mikrostudie som genomfördes svarar på frågeställningen den aspirerar på att besvara, torde vara relativt bra eftersom antalet variabler begränsades genom att använda industriella standarder med hög grad av kvalitetskontroll och dokumentation. Analysen svarar väl på frågan om mätmetoden kan upptäcka ökade dabigatrankoncentrationer eftersom tillsatsen av ämnet låg helt inom egen kontroll och inga andra ämnen blev tillsatta till det poolade plasmat. Tillvägagångssättet med plasmapool

utesluter naturligtvis inte möjligheten för eventuellt störande ämnen eller brus, men garanterar att sådana eventuella ämnen fördelas jämnt i alla prover och ger en jämförbar bas.

Reliabiliteten eller huruvida analysen skulle ge samma värde vid en upprepad analys torde även den ligga på en godtagbar nivå. Detta under förutsättning att analysinstrumentet i likhet med detta fall är kalibrerat, kontroller för reagenser körda och plasmaproverna undersökta för avvikelser. Eftersom samma standarder går att använda igen och metoden är standardiserad borde det vara möjligt att uppnå liknande värden. En brist i studien är självfallet det ringa antal prov som blev analyserade. Vid en upprepad studie skulle nog angreppssättet bli att redan från börja gå in för basplasma med tillsats av standarder och göra upprepade serier för att erhålla en större datamängd. Vidare borde analysen omfatta även högre koncentrationer för att undersöka om mätningar med Vasas APT-tid motsvarar andra publicerade resultat som pekar mot svårigheter vid just högre koncentrationer.

10 Diskussion

Diskussion om vad som kommer härnäst är mycket intressant. APTT har sina fördelar men har även begränsningar. Optimalt vore en situation där man hade ett test som klarade av att utvärdera effekten av om inte alla antikoagulativa medel, så åtminstone de flesta. En uppgift som är mycket krävande för att uttrycka det milt, men inte helt omöjlig. Eftersom de olika antikoagulativa ämnena verkar på olika punkter och mekanismer i den totala koagulationsreaktionen är det fullt förståeligt att det inte är helt enkelt. Huruvida ett enda universaltest för koagulationsundersökningar är intressant för tillverkare av utrustning och reagenskit lämnas till en annan diskussion.

Det har gjorts försök med olika tillvägagångssätt för att lösa problemet. Ett av de intressantare är en studie som publicerats i *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2016, i vilken man arbetat under hypotesen med utspädning av tromboplastinet till dPT (diluted prothrombin time) och dFiix-PT test för att erhålla bättre känslighet för de nyare antikoagulativa i jämförelse med traditionellt tromboplastin i PT. (Letertre 2016, s. 1043).

Det senare testet dFiix-PT, förklaras även i *Nordisk Biokemi* nr2, 2017, av den isländska duon Onundarson och Gudmundsdottir som ett faktor II och X-test som skiljer sig från ett traditionellt PT genom att det påverkas enbart av reducerad FII- och FX-aktivitet i provmaterialet. Detta uppnår man genom att korrigera för underfunktion hos övriga faktorer

förutom just FII och FX före aktivering av koagulationsreaktionen och mätning av koagulationstid. (Onundarson & Gudmundsdottir 2017, s. 24).

Den isländska duon medverkade i den omfattande studien runt spädning av tromboplastinet. Tillvägagångssättet har drag som liknar tankegången i respondentens mätning. Utgångspunkten var att man ville hitta en spädningsfaktor som gjorde att testet skulle vara känsligt för så många olika antikoagulativa ämnen som möjligt. Kalibreringsserier med kända koncentrationer av nya orala antikoagulativa (NOAC) användes för att göra upp standardkurvor. Citratplasma med kända halter av warfarin eller NOAC samlades från olika patientgrupper. Läkemedelshalterna bestämdes med specifika analyser. I jämförelse med resultaten från de specifika analyserna korrelerade dFiix-PT resultaten bättre än resultaten från dPT. Man fann som resultat av studien att dFiix-PT kunde vara ett lämpligt test för att bestämma den antikoagulativa verkan av warfarin, dabigatran, rivaroxaban, apixaban, heparin och enoxaparin. (Letertre 2016, s. 1043).

Antagligen krävs ytterligare studier runt denna metod, men resultatet visar ändå att det kunde vara möjligt att utveckla ett test som skulle vara lämpligt att utvärdera det tillstånd av koagulativa/antikoagulativa krafter, som råder i en människas blod vid tidpunkten av provtagning och detta oberoende av medicin i användning. Återstår att se om detta realiseras i praktiken.

11 Källor

- Annesley T. M., 1994. *Clinical Laboratory Medicine*, Williams&Wilkins, Baltimore
- Astermark J., 2012. *Blodets sjukdomar*. Lund: Studentlitteratur.
- Baghaei F., 2016. *PK(INR) – Protrombinkomplex*. [Online]
<http://www.internetmedicin.se/page.aspx?id=209> [hämtat: 10.05.2017].
- Berséus O., Filbey D. & Henriksson O., 1994. *Vårt att veta om blod*. Regionsjukhuset Örebro.
- Biomedicinskanalytiker, 2015. [Online]
<https://biomedicinskanalytiker.org/2015/07/16/aptt/> [hämtat: 08.03.2017].
- Brown K. S., Zahir H., Grosso M. A., Lanz H. J., Mercuri M. F. & Levy J. H., 2016. Nonvitamin K antagonist oral anticoagulant activity: challenges in measurement and reversal, *Critical Care*. [Online]
<https://ccforum.biomedcentral.com> [hämtat: 11.06.2017].
- Cuker A., 2016. Laboratory measurement of the non-vitamin K antagonist oral anticoagulants: selecting the optimal assay based on drug, assay availability, and clinical indication. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. volume 41, issue 2
- Denscombe M., 2014. *The good research guide*. Berkshire, England: Open University Press, McGraw-Hill House.
- Drugs.com, 2017. *Faktor Xa inhibitors*. [online]
<https://www.drugs.com/drug-class/factor-xa-inhibitors.html> [hämtat: 10.09.2017].
- Ellonen M. & Mustajoki P., 2015. *Verenohennuslääkkeet (antikoagulaatiohoito)*. [online]
<http://www.terveyskirjasto.fi/terveysportti/tk.koti> [hämtat: 08.03.2017].
- Fimea, *Use of idarucizumab as a specific antidote to dabigatran seems reasonable*. [Online]
<https://www.fimea.fi/web/en/-/use-of-idarucizumab-as-a-specific-antidote-to-dabigatran-seems-reasonable>, [hämtat: 15.10.2017].
- Fimea, 2017. *Läkemedelsstatistik*. [Online]
https://www.fimea.fi/web/sv/soktjanster_och_forteckningar/lakemedelsstatistik [hämtat: 18.10.2017].
- Fischbach F. T., 2000. *A Manual of Laboratory & Diagnostic Tests*. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- George J. N., 2000. Platelets, *The Lancet*. Vol 355.
- Hu T. Y., Vaidya V. R. & Asirvatham S. J., 2016. Reversing anticoagulant effects of novel oral anticoagulants: role of ciraparantag, andexanet alfa, and idarucizumab, *Vascular Health and Risk Management*. v12.

Huisman M.V. & Fanikos J., 2016. Idarucizumab and Factor Xa reversal agents: role in hospital guidelines and protocols. *American journal of medicine*. Volume 129, Issue 11.

Hedner U., 2006. *Internmedicin*. Stockholm: Liber AB.

Johnsson H. & Mattiasson I., 2000. *Kärlsjukdomar – prevention och behandling*. Lund: studentlitteratur.

Kristoffersen A-H., Vegard Stavelin A., Johansen P. W. & Henriksson C. E., 2013. Laboratorieanalyser ved behandling med nye perorale antikoagulationsmidler, *Klinisk Biokemi i Norden*. nr4.

Kutti J. & Wadenvik H., 1997. *Blodsjukdomar*, Stockholm: Natur och Kultur.

Vasa centralsjukhus, 2015. Laborariehandboken [Online]
<http://www.vshp.fi/medserv/klkemi/search.asp?Query=aptt&B1=Hae%2FS%F6k>
[hämtat: 17.06.2017].

Lassila R. 2015, *Veritaudit*, Helsingfors: Duodecim.

Leinonen J. 2017. *Tromboplastiiniaika, aktivoitu, partiaallinen, plasmasta*. [Online]
http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=2783&terms=aptt, [hämtat: 08.03.2017].

Letertre L.R., Gudmundsdottir B. R., Francis C. W., Gosselin R. C., Skeppholm M., Malmstrom R. E., Moll S., Hawes E., Francart S. & Onundarson P. T., 2016. A single test to assay warfarin, dabigatran, rivaroxaban, apixaban, unfractionated heparin and enoxaparin in plasma. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 14.

Lockner D., 1997. *Blodsjukdomar*. Stockholm: Natur och Kultur.

Mahlamäki E., 2003. *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsingfors: Werner Söderström.

Mauritzson E., u.å. *Preanalytikutbildning*. [online]
<https://vardgivare.skane.se/vardriktlinjer/laboratoriemedicin/> [hämtat: 07.08.2017].

Mustonen P. & Lepäntalo A., 2015. *Veritaudit*. Helsingfors: Duodecim.

Newcastle university 2017. *Emeritus professor Thomas Kirkwood*. [Online]
<http://www.ncl.ac.uk/ageing/staff/profile/tomkirkwood.html#research> [hämtat: 04.11.2017].

NIH 2016, *Calcium factsheet for health professionals*. [Online]
<https://ods.od.nih.gov/factsheets/Calcium-HealthProfessional/> [hämtat: 26.08.2017].

Nyman D., 1997. *Blodsjukdomar*, Stockholm: Natur och Kultur.

Onundarson P.T., Gudmundsdottir B.R., 2017. Fiix-ing the prothrombin time to improve warfarin anticoagulation. *Klinisk Biokemi i Norden* Nr 2, vol. 29.

Perry D. J., Todd T., 2013. *Practical-Haemostasis*. [online]

<http://practical-haemostasis.com/> [hämtat: 16.06.2017].

Pirmohamed M., 2006. Warfarin: almost 60 years old and still causing problems. *BR J Clinical Pharmacology*, Nov; 62(5):509–511. [online]
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1885167/> [hämtat: 17.06.2017].

Poller L. 2004. International Normalized Ratios (INR): the first 20 years. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. Volume 2, Issue 6.

Raatikainen P., 2014. *Varfariinin käyttö eteisvärinässä*. [Online]
http://www.ebm-guidelines.com/dtk/syd/avaa?p_artikkeli=syd00362 [hämtat: 04.11.2017].

Rang H., Dale M., Ritter J. & Flower R., 2012. Rang and Dale's pharmacology, Churchill, Livingstone: Elsevier.

Ryn J., Stangier J., Haertter S., Liesenfeld K. H., Wienen W., Feuring M. & Clemens A., 2010. Dabigatran etexilate – a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor: Interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity. *Thrombosis and Haemostasis*. 103.6.

Palta S., Saroa R. & Palta A., 2014. Overview of the coagulation system. *Indian Journal of Anaesthesia*. Sep-Oct; 58(5)

Schmaier A.H., 2008. The elusive physiological role of factor XII. *The Journal of Clinical Investigation*, [online], <https://www.jci.org/articles/view/36617> [hämtat: 17.10.2017].

Schulman S., 2012. *Blodets sjukdomar*. Lund: Studentlitteratur.

Schulman S. & Lindström K., 2015. *Venös tromboembolism och medel mot trombos*. [online]
https://lakemedelsboken.se/kapitel/blod/venos_tromboembolism_och_medel_mot_trombos.html#d2_5 [hämtat: 08.03.2017].

Solunetti, 2006. *Spektrofotometria*, [Online]
<http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/spektrofotometria/> [hämtat: 07.11.2017].

Sonesson B. & Sonesson G. 2008. *Anatomi och Fysiologi*. Stockholm: Liber AB.

Stago, 2017. *STA® - Cephascreen® kit*, bipacksedel.

Stago, 2015. *STA®-ECA II*, bipacksedel.

Stago, u.å. *Stago group presentation*. [Online]
<https://www.stago.com/stago-group/stago-group-presentation/> [hämtat: 7.11.2017].

Tacke F., Fiedler K., von Depka M., Luedde T., Hecker H., Manns M. P., Ganser A. & Trautwein C., 2006. Clinical and prognostic role of plasma coagulation factor XIII activity for bleeding disorders and 6-year survival in patients with chronic liver disease. *Liver International*. Mar, 26(2)

Triplett D.A., 1994. *Clinical Laboratory Medicine*. Baltimore: Williams&Wilkins.

1177Vårdguiden, 2016. *Blodförtunnande läkemedel*. [Online] <http://www.1177.se/Fakta-och-rad/Rad-om-lakemedel/Blodfortunnande-lakemedel-> [hämtat: 08.03.2017].

Figurer och tabeller

Figur 1. Murphy A. *coagulation studies*. [Online] <http://www.tamingthesru.com/blog/2016/10/11/coagulation-studies> [hämtat: 07.11.2017].

Figur 2. *Stago, STA-R Evolution*. [Online] https://www.diamonddiagnostics.com/en/analyzers_Instrument_info.asp?pid=0-SG-STAREVOL [hämtat: 7.11.2017].

Figur 3. Resultat, dabigatranmätning.

Figur 4. Resultat, APTT på standarder.

Tabell 1. Referenser för trombocyter. Huslab, ohjekirja, *B-PVK + TKD*. [Online] <https://huslab.fi/ohjekirja/2475.html> [hämtat 09.11.2017].

Tabell 2. Översikt över antikoagulativa och neutraliserande ämnen

Tabell 3. Fimea, *läkemedelsstatistik*. [Online] <http://raportit.nam.fi/raportit/kulutus/laakemyynti.htm> [hämtat: 07.11.2017].

Tabell 4. Resultat, dabigatranmätning.

Tabell 5. Kristoffersen A-H. Et Al., 2013, *Laboratorieanalyser ved behandling med nye perorale antikoagulationsmidler*, Klinisk Biokemi i Norden, nr4